



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113755389 A

(43) 申请公布日 2021.12.07

(21) 申请号 202111166440.0

(22) 申请日 2021.09.30

(83) 生物保藏信息

CGMCC NO.20317 2020.07.08

(71) 申请人 北京世纪阿姆斯生物工程有限公司

地址 101200 北京市平谷区中关村科技园  
区平谷园兴谷A区M2—8号—2

申请人 北京世纪阿姆斯生物技术有限公司

(72) 发明人 张志鹏 彭启超 黄德龙 邓祖科

魏浩 吴妍 李俊

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

A01G 13/00 (2006.01)

C12R 1/07 (2006.01)

权利要求书1页 说明书16页

序列表1页 附图5页

(54) 发明名称

一种贝莱斯芽孢杆菌及其应用

(57) 摘要

本申请涉及生防菌株的技术领域,具体公开了一种贝莱斯芽孢杆菌及其应用。该贝莱斯芽孢杆菌的保藏编号为CGMCC NO.20317;包括该贝莱斯芽孢杆菌的培养物或其加工物;包括载体以及贝莱斯芽孢杆菌和/或其培养物或加工物的微生物菌剂;包括贝莱斯芽孢杆菌或微生物菌剂的微生物肥料;以及贝莱斯芽孢杆菌、其培养物或加工物、微生物菌剂或微生物肥料在制备用于改善和/或预防农作物疾病的组合物中的应用。本申请提供的贝莱斯芽孢杆菌作为生防菌株,能够有效改善和预防农作物疾病。

1. 一种贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*), 其特征在于, 保藏编号为CGMCC NO.20317。

2. 根据权利要求1所述的一种贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*), 其特征在于: 所述贝莱斯芽孢杆菌在LB固体培养基上的菌落表面干燥褶皱, 不透明, 乳白色, 边缘不规则或近圆形, 有微突起。

3. 一种包括权利要求1所述的贝莱斯芽孢杆菌的培养物或其加工物。

4. 利用权利要求1所述的贝莱斯芽孢杆菌制备的菌悬液。

5. 利用权利要求1所述的贝莱斯芽孢杆菌或权利要求5所述的菌悬液制备的无菌发酵液。

6. 一种微生物菌剂, 其特征在于: 所述微生物菌剂包括权利要求1所述的贝莱斯芽孢杆菌和/或权利要求3所述的培养物或加工物。

7. 一种微生物菌剂, 其特征在于: 所述微生物菌剂包括权利要求1所述的贝莱斯芽孢杆菌、权利要求4所述的菌悬液和/或权利要求5所述的无菌发酵液。

8. 一种微生物肥料, 其特征在于: 所述微生物肥料包括权利要求1所述的贝莱斯芽孢杆菌、权利要求6所述的微生物菌剂或权利要求7所述的微生物菌剂。

9. 如权利要求1所述的贝莱斯芽孢杆菌、权利要求3所述的培养物或加工物、权利要求6或7所述的微生物菌剂、或权利要求8所述的微生物肥料在制备用于改善和/或预防农作物疾病的组合物中的应用。

10. 根据权利要求9所述的应用, 其特征在于: 所述组合物用于改善和/或预防的农作物疾病为花生白绢病、玉米小斑病、棉花枯萎病、番茄叶霉病、番茄灰霉病、烟草赤星病、蔬菜花卉胶孢炭疽病和葡萄灰霉病中的一种或多种。

## 一种贝莱斯芽孢杆菌及其应用

### 技术领域

[0001] 本申请涉及生防菌株的技术领域,更具体地说,它涉及一种贝莱斯芽孢杆菌及其应用。

### 背景技术

[0002] 农作物作为我国主要的产业之一,其在社会生产中占据重要的地位。但近年来,农作物疾病对于农作物产量的影响呈现逐年加重的趋势。

[0003] 目前,对于农作物疾病的防控措施主要有轮作、深耕、培育抗性品种以及使用化学药剂等。然而,上述防控方式均治标不治本,并且长时间使用化学药剂,还会导致田间土壤受到化学药剂的污染,造成农产品质量和产量均下降,甚至还会出现农产品的安全性问题。

[0004] 生物防控是农业绿色发展的重要方向,利用生防菌株防控农作物疾病是一直以来农业绿色发展迫切需要解决的难题。

### 发明内容

[0005] 为了利用生防菌株改善和防控农作物疾病,本申请提供一种贝莱斯芽孢杆菌及其应用。

[0006] 第一方面,本申请提供一种贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*),采用如下的技术方案:

[0007] 一种贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*),保藏编号为CGMCC NO.20317。

[0008] 所述贝莱斯芽孢杆菌在LB固体培养基上的菌落表面干燥褶皱,不透明,乳白色,边缘不规则或近圆形,有微突起。

[0009] 本申请提供了一种贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*),其能够有效抑制多种农作物疾病病原菌菌丝的生长,以降低多种农作物疾病病原菌对农作物的影响。本申请提供的贝莱斯芽孢杆菌能够降低农作物的病株率和死颗率,从而有效降低多种农作物的发病率,并且对多种农作物疾病均具有较好的防治效果。

[0010] 第二方面,本申请提供一种包括上述贝莱斯芽孢杆菌的培养物或其加工物。

[0011] 第三方面,本申请提供一种利用上述贝莱斯芽孢杆菌制备的菌悬液。

[0012] 优选的,贝莱斯芽孢杆菌菌悬液的浓度为 $1.0 \times 10^9$ - $4.0 \times 10^9$ CFU/mL。

[0013] 第四方面,本申请提供一种利用上述贝莱斯芽孢杆菌制备的无菌发酵液。

[0014] 第五方面,本申请提供一种微生物菌剂,采用如下的技术方案:

[0015] 一种微生物菌剂,所述微生物菌剂包括上述贝莱斯芽孢杆菌和/或上述培养物或加工物。

[0016] 一种微生物菌剂,所述微生物菌剂包括上述贝莱斯芽孢杆菌、上述菌悬液和/或上述无菌发酵液。

[0017] 第六方面,本申请提供一种微生物肥料,采用如下的技术方案:

[0018] 一种微生物肥料,所述微生物肥料包括上述贝莱斯芽孢杆菌或上述微生物菌剂。

[0019] 第七方面,本申请提供上述贝莱斯芽孢杆菌、其培养物或加工物、微生物菌剂、或微生物肥料在制备用于改善和/或预防农作物疾病的组合物中的应用。

[0020] 优选的,所述组合物用于改善和/或预防的农作物疾病可以是花生白绢病、玉米小斑病、棉花枯萎病、番茄叶霉病、番茄灰霉病、烟草赤星病、蔬菜花卉胶孢炭疽病和葡萄灰霉病中的一种或多种。

[0021] 在一个具体的实施方案中,*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液( $1.0 \times 10^9$ CFU/mL)在接种60d时对花生白绢病的防治效果达到62.50%。

[0022] 在一个具体的实施方案中,*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液( $1.0 \times 10^9$ CFU/mL)在接种60d时对玉米小斑病的防治效果达到50.00%。

[0023] 在一个具体的实施方案中,*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液( $4.0 \times 10^9$ CFU/mL)在接种25d时对棉花枯萎病的防治效果达到82.85%。

[0024] 在一个具体的实施方案中,*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液( $4.0 \times 10^9$ CFU/mL)在接种30d时对番茄叶霉病的防治效果达到82.35%。

[0025] 在一个具体的实施方案中,*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液( $4.0 \times 10^9$ CFU/mL)在接种30d时对番茄灰霉病的防治效果达到88.46%。

[0026] 菌种保藏信息:本申请提供的贝莱斯芽孢杆菌命名为贝莱斯芽孢杆菌DPT-03(*Bacillus velezensis* DPT-03),保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC),保藏编号为CGMCC NO.20317,保藏日期为2020年7月8日。其16S rDNA序列如SEQ ID NO 1所示。

[0027] 综上所述,本申请具有以下有益效果:

[0028] 1、本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03能够降低农作物的病株率和死颖率,从而有效降低多种农作物的发病率,并且对多种农作物疾病均具有较好的防治效果。尤其是对花生白绢病、玉米小斑病、棉花枯萎病、番茄叶霉病、番茄灰霉病、烟草赤星病、蔬菜花卉胶孢炭疽病和葡萄灰霉病中的一种或多种,均具有较好的防治效果。

[0029] 2、利用本申请提供的所述贝莱斯芽孢杆菌制备的培养物或其加工物、菌悬液、无菌发酵液、微生物菌剂、微生物肥料均能够有效降低多种农作物的发病率,对多种农作物疾病均具有较好的防治效果。

## 附图说明

[0030] 图1是*Bacillus velezensis* DPT-03在LB固体培养基平板上的划线结果。

[0031] 图2是*Bacillus velezensis* DPT-03基于16S rDNA序列的Neighbour-joining树。

[0032] 图3为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对花生白绢病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0033] 图4为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对玉米小斑病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0034] 图5为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对棉花枯萎病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0035] 图6为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对番茄叶霉病病原菌菌丝生长的作用效果。

- [0036] 图7为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对番茄灰霉病病原菌菌丝生长的作用效果。
- [0037] 图8为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对烟草赤星病病原菌菌丝生长的作用效果。
- [0038] 图9为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对胶孢炭疽病病原菌菌丝生长的作用效果。
- [0039] 图10为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对烟草赤星病病原菌菌丝生长的作用效果。

### 具体实施方式

[0040] 本申请提供一种贝莱斯芽孢杆菌,其命名为贝莱斯芽孢杆菌DPT-03 (*Bacillus velezensis* DPT-03),保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心 (CGMCC),保藏编号为CGMCC NO.20317,保藏日期为2020年7月8日。其16S rDNA序列如SEQ ID NO 1所示。

[0041] 以下实施例和对比例中所涉及的仪器、试剂、材料等,若无特别说明,均为相关技术中的常规仪器、试剂、材料等。下列实施例中所涉及的试验方法和检测方法,若无特别说明,均为相关技术中的常规试验方法和常规检测方法。

[0042] 其中,本申请中涉及的以下内容具体为:

[0043] LB固体培养基的配方如下:以体积1L计,包括胰蛋白胨10g,酵母提取物5g,NaCl 10g,琼脂15g。

[0044] LB液体培养基的配方如下:以体积1L计,包括胰蛋白胨10g,酵母提取物5g,NaCl 10g。

[0045] PDA固体培养基:以体积1L计,包括马铃薯200g,葡萄糖20g,琼脂15g,自然pH。

[0046] PDA液体培养基:以体积1L计,包括马铃薯200g,葡萄糖20g,自然pH。

[0047] 其中,花生白绢病病原菌由山东省花生研究所提供;玉米小斑病病原菌、棉花枯萎病病原菌、番茄叶霉病病原菌、番茄灰霉病病原菌、烟草赤星病病原菌、胶孢炭疽病病原菌、葡萄灰霉病病原菌均由中国农科院植物保护研究所提供。

[0048] 以下结合实施例1-17、对比例1-9、附图1-10以及检测试验一-七对本申请作进一步详细说明。

[0049] 实施例

[0050] 实施例1

[0051] 本实施例提供了*Bacillus velezensis* DPT-03的筛选方法。

[0052] 一、采样地点

[0053] 本实施例中的采样地点为北京世纪阿姆斯生物技术有限公司的花生试验田中的病害土壤。

[0054] 二、菌株的分离、纯化

[0055] (1) 于采样地点采集病害土壤块20g,带回实验室,作为土壤样品;

[0056] (2) 称取10g步骤(1)获得的土壤样品,将称好的土壤样品添加至装有90mL无菌水的三角瓶中,然后将三角瓶置于150r/min、28℃的恒温摇床中培养30min,获得样品悬浮液;

[0057] (3) 取1mL步骤(2)获得的样品悬浮液,按照10倍比例梯度稀释后,获得 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 和 $10^{-6}$ 倍的样品稀释液;

[0058] (4) 分别取步骤(3)获得的 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 和 $10^{-6}$ 倍的样品稀释液100 $\mu$ L涂布于LB固体培养基平板上,并将涂布后的LB固体培养基平板置于28 $^{\circ}$ C的恒温培养箱中培养48h;培养后LB固体培养基平板上有菌落生长;

[0059] (5) 挑取步骤(4)的LB固体培养基平板上生长的单菌落,划线转移至新的LB固体培养基平板上,并将划线后的LB固体培养基平板置于28 $^{\circ}$ C的恒温培养箱中培养48h;观察培养后的LB固体培养基平板中只有一种菌落形态,则表明分离纯化完成;将分离纯化完成后的LB固体培养基平板置于4 $^{\circ}$ C的条件下保存,备用。

[0060] 通过上述对土壤样品中菌株的分离、纯化,共获得8种菌株。

[0061] 三、菌株的筛选

[0062] (1) 分别将分离、纯化获得的8种菌株活化,接种至相应的LB液体培养基中,并将接种后的LB液体培养基置于150r/min、28 $^{\circ}$ C的恒温摇床中培养24h;培养后LB液体培养基中菌株OD<sub>600</sub>达到1.2以上,得到8种菌株的被测试菌液;

[0063] (2) 利用对峙生长法筛选抗性菌株:

[0064] A. 将花生白绢病病原菌置于PDA固体培养基平板上活化,获得活化后的病原菌平板;

[0065] B. 利用打孔器从活化后的病原菌平板上取样,获得病原菌菌块,并将病原菌菌块置于空白PDA固体培养基平板的中央;然后在距离PDA固体培养基平板中央20mm处平行放置2个6mm的灭菌滤纸片,并向其中一个滤纸片上加入10 $\mu$ L活化后的被测试菌液,作为检测样,向另一个滤纸片上加入10 $\mu$ L无菌PDA液体培养基,作为对照样;将上述PDA固体培养基平板置于28 $^{\circ}$ C的恒温培养箱中培养72h;若培养后的PDA固体培养基平板上出现抑菌带,则表明该菌株为白绢病病原菌抗性菌株。

[0066] 分别利用上述步骤对步骤(1)获得的被测试菌液进行筛选,通过培养后PDA固体培养基平板上是否产生抑菌带以及产生的抑菌带宽度,对8种菌株的抗菌能力进行初步判定。

[0067] 经过筛选,最终获得一株抑菌带宽度超过15mm的菌株,命名为DPT-03,菌株DPT-03对花生白绢病病原菌表现出明显的抑制作用。将菌株DPT-03利用LB液体培养基培养后,-80 $^{\circ}$ C甘油保藏。

[0068] 实施例2

[0069] 本实施例提供了*Bacillus velezensis* DPT-03的鉴定方法。鉴定对象为实施例1筛选出的菌株DPT-03。

[0070] 一、菌株DPT-03的形态学特征

[0071] 将菌株DPT-03接种于LB固体培养基平板,置于37 $^{\circ}$ C的恒温培养箱中培养48h,菌落表面干燥褶皱,不透明,乳白色,边缘不规则或近圆形,有微突起,菌株DPT-03划线图片见图1。显微镜观察菌体形态特征为杆状,单细胞,革兰氏染色为阳性,有芽孢。

[0072] 二、菌株DPT-03的鉴定

[0073] 将实施例1筛选获得的菌株DPT-03接种于LB固体培养基中,培养过夜后,从平板上取一个新鲜的单菌落置于1.5mL离心管中,加入10 $\mu$ L的S2裂解液,将其震荡混匀,室温静置20min,随后稀释20倍,震荡混匀,12000r/min,离心2min,取上清液作为模板,进行PCR扩增。

[0074] 扩增条件如下:

[0075] 正向引物为27F:AGAGTTTGATCCTGGCTCAG;

[0076] 反向引物为1492R:TACGGCTACCTTGTTACGACTT;

[0077] 扩增酶为code#AS11;

[0078] 扩增程序为94℃5min;94℃30s;55℃30s;72℃90s;循环数35次,72℃7min,4℃保存。

[0079] 扩增反应体系如下:2x EasyTaq SuperMix 15uL;27F (10μM) 1.5uL;1492R (10μM) 1.5uL;模板5uL;ddH<sub>2</sub>O 7uL;Total 30uL。

[0080] 将PCR扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,回收并纯化胶块。

[0081] 琼脂糖凝胶电泳的配置体系如下:蒸馏水2.16mL;30%Acr-Bis (29:1) 2.64mL;1M Tris pH=8.8 3.04mL;10%SDS 0.08mL;10%过硫酸钠0.08mL;TEMED 0.0032mL;Total 8mL。

[0082] 将纯化后的产物进行sanger测序,获得正反向测序结果,利用DNAMAN软件对所得基因序列进行拼接,并在www.ezbiocloud.net数据库中进行16S rDNA的比对,鉴定微生物的种类。

[0083] 利用16S rDNA序列比对,确定菌株DPT-03系统发育相关的属,并基于16S rDNA序列采用邻接法构建系统发育树。

[0084] 图2为*Bacillus velezensis* DPT-03基于16S rDNA序列的Neighbour-joining树。

[0085] 由图2可知,菌株DPT-03和*Bacillus velezensis*表现的亲缘关系最近,序列相似性为99.8%。基于菌株DPT-03的16S rDNA系统发育分析,确定筛选得到的菌株DPT-03为贝莱斯芽孢杆菌DPT-03 (*Bacillus velezensis* DPT-03)。其16S rDNA的序列如SEQ ID NO 1所示。

[0086] 实施例3

[0087] 本实施例提供了*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的制备方法。

[0088] 取4℃保存的LB固体培养基平板上的*Bacillus velezensis* DPT-03单菌落,接种于LB液体培养基中,置于37℃、180r/min的恒温摇床中培养24h,获得*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液,备用。

[0089] 实施例4

[0090] 本实施例提供了*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液的制备方法。

[0091] 取4℃保存的LB固体培养基平板上的*Bacillus velezensis* DPT-03单菌落,接种于LB液体培养基中,置于37℃、180r/min的恒温摇床中培养24h,获得*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液;

[0092] 取*Bacillus velezensis* DPT-03的菌悬液,在10000r/min的条件下离心10min,收集上清液,并用0.22μm的无菌滤膜过滤,获得*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液。

[0093] 检测试验

[0094] 检测试验一

[0095] 以实施例3制备的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液为检测对象,检测其对花生白绢病病原菌、玉米小斑病病原菌、棉花枯萎病病原菌、番茄叶霉病病原菌、番茄灰霉病病原菌、烟草赤星病病原菌、蔬菜花卉胶孢炭疽病病原菌、葡萄灰霉病病原菌病原菌菌丝生

长的影响。

#### [0096] 一、检测方法

[0097] (1) 病原菌的活化:将4℃保存的花生白绢病病原菌PDA固体培养基平板、玉米小斑病病原菌PDA固体培养基平板、棉花枯萎病病原菌PDA固体培养基平板、番茄叶霉病病原菌PDA固体培养基平板、番茄灰霉病病原菌PDA固体培养基平板、烟草赤星病病原菌PDA固体培养基平板、蔬菜花卉胶孢炭疽病病原菌PDA固体培养基平板、葡萄灰霉病病原菌PDA固体培养基平板打孔,取直径7.5mm圆形菌饼分别接种到PDA液体培养基平板上,置于28℃的恒温培养箱中培养3-4d,备用;

[0098] (2) 将步骤(1)培养好的花生白绢病病原菌、玉米小斑病病原菌、棉花枯萎病病原菌、番茄叶霉病病原菌、番茄灰霉病病原菌、烟草赤星病病原菌、蔬菜花卉胶孢炭疽病病原菌、烟草赤星病病原菌的PDA液体培养基平板打孔,取直径7.5mm圆形菌饼分别接种到新的PDA固体培养基平板中央;

[0099] 然后在距离PDA固体培养基平板中央20mm处的相对位置分别放置6mm的灭菌滤纸片,向滤纸片上加入10μL *Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液,作为检测样。

[0100] 将上述PDA固体培养基平板置于28℃的恒温培养箱中培养,分别在5d时观察*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对各病原菌的抑菌情况。

#### [0101] 二、检测结果

[0102] 检测结果如图3-10所示。

[0103] 图3为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对花生白绢病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0104] 图4为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对玉米小斑病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0105] 图5为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对棉花枯萎病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0106] 图6为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对番茄叶霉病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0107] 图7为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对番茄灰霉病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0108] 图8为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对烟草赤星病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0109] 图9为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对胶孢炭疽病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0110] 图10为*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液对烟草赤星病病原菌菌丝生长的作用效果。

[0111] 由上述图3-图10可知,本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03对花生白绢病、玉米小斑病、棉花枯萎病、番茄叶霉病、番茄灰霉病、烟草赤星病、蔬菜花卉胶孢炭疽病和葡萄灰霉病中的一种或多种,均具有较好的抑制效果。故本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03能够降低农作物的病株率和死颖率,从而有效降低多种农作物的发病率,并且对多种农作物疾病均具有较好的防治效果。

[0112] 实施例5

[0113] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的花生盆栽。利用的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液为实施例3制备的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液。

[0114] 上述盆栽的制备方法如下：

[0115] (1) 制备花生盆栽：将2kg土壤与1g复合肥料15-15-15混合均匀，并置于花盆中，将3粒饱满健康的花生粒埋入土壤中，待15d后进行间苗，每盆保留1棵花生苗；

[0116] (2) 病原菌的接种：20d后将花生白绢病病原菌接种到花生盆栽的土壤中，接种量为20mL，浓度为 $1.0 \times 10^8$ CFU/mL；

[0117] (3) 菌悬液的接种：花生白绢病病原菌接种2d后将浓度为 $1.0 \times 10^9$ CFU/mL的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液接种到花生盆栽的土壤中，接种量为每个盆栽20mL，制得包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的盆栽。

[0118] 实施例6

[0119] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液的花生盆栽。利用的*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液为实施例4制备的*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液。

[0120] 上述盆栽的制备方法与实施例5中的制备方法的不同之处在于：

[0121] 步骤(3)为：无菌发酵液的接种：花生白绢病病原菌接种2d后将浓度为 $1.0 \times 10^9$ CFU/mL的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液制备的无菌发酵液接种到花生盆栽的土壤中，接种量为每个盆栽20mL，制得包括*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液的盆栽。

[0122] 对比例1

[0123] 本对比例提供了一种包括处理药剂的花生盆栽。其制备方法与实施例5的不同之处在于：

[0124] 步骤(3)为：噻呋酰胺农药的接种：花生白绢病病原菌接种2d后将噻呋酰胺农药接种到花生盆栽的土壤中，接种量为每个盆栽20mL，制得包括处理药剂的盆栽。其中，噻呋酰胺农药为240g/L噻呋酰胺悬浮剂，且将噻呋酰胺农药稀释500倍使用。

[0125] 对比例2

[0126] 本对比例提供了一种花生盆栽。其制备方法与实施例5的不同之处在于：

[0127] 步骤(3)为：无菌水的接种：花生白绢病病原菌接种2d后将无菌水接种到花生盆栽的土壤中，接种量为每个盆栽20mL，制得包括无菌水的盆栽。

[0128] 检测试验二

[0129] 以实施例5、实施例6、对比例1、对比例2制备的花生盆栽为检测对象，上述每种盆栽分别设置15个平行，检测各盆栽的发病情况。

[0130] 一、检测方法

[0131] 分别在花生盆栽接种花生白绢病病原菌20d、40d、60d时，对花生盆栽的发病情况进行检测，统计花生盆栽的发病率和防治效果。

[0132] 二、计算方法

[0133] 分别计算花生盆栽的发病率和防治效果。

[0134] (1) 发病率的计算公式如下：

[0135] 发病率(%) = 发病株数/总株数 × 100%；

[0136] (2) 防治效果的计算公式如下：

[0137] 防治效果(%) = (对照发病率 - 处理发病率) / 对照发病率 × 100%

[0138] 三、检测结果

[0139] 检测结果如表1所示。

[0140] 表1检测试验二的检测结果

[0141]

检测对象	接种花生白绢病病原菌的时间 (d)					
	20		40		60	
	发病率 (%)	防治效果 (%)	发病率 (%)	防治效果 (%)	发病率 (%)	防治效果 (%)
[0142] 实施例 5	0.00	100.00	20.00	59.01	33.33	62.50
实施例 6	0.00	100.00	26.67	49.98	53.33	30.36
对比例 1	0.00	100.00	20.00	59.01	40.00	57.14
对比例 2	20.00	/	53.00	/	80.00	/

[0143] 如表1所示的检测结果,通过对比例2的检测结果,可知花生盆栽中单独接种花生白绢病病原菌时,花生植株的发病时间较早,在接种花生白绢病病原菌20d时花生植株的发病率即达到了20.00%。而通过实施例5、实施例6以及对比例1的检测结果,可知同样在接种花生白绢病病原菌20d,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液、*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液以及处理药剂的花生盆栽中,花生植株均未出现发病情况,上述三者对于花生白绢病的防治效果均达到了100%。由上述结果可知,无论是本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液,还是本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液,均能够在短期内保证花生植株不出现发病情况。故在花生植株培育的过程中,本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03能够有效预防短期内花生植株出现花生白绢病,同时还能够推迟花生植株的发病时间和发病指数。

[0144] 通过对比花生盆栽接种花生白绢病病原菌40d时实施例5、实施例6、对比例1、对比例2的结果可知,此时,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果达到了59.01%,接种*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果达到了49.98%;接种处理药剂的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果达到了59.01%。由上述结果可知,当花生盆栽接种花生白绢病病原菌40d时,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液、*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液以及处理药剂的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果较接种花生白绢病病原菌20d的防治效果均有所下降,且此时接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果与接种处理药剂的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果基本相同,而接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果则优于接种*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果。故在花生植株培育的过程中,本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液能够有效提高中期内对于花生白绢病的防治效果。

[0145] 通过对比花生盆栽接种花生白绢病病原菌60d时实施例5、实施例6、对比例1、对比例2的结果可知,此时,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果达到了62.50%,接种*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果达到了30.36%;接种处理药剂的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果达到了57.14%。由上述结果可知,当花生盆栽接种花生白绢病病原菌60d时,接种*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液、处理药剂的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果较接种花生白绢病病原菌40d的防治效果均有所下降,尤其是接种*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果下降趋势更为明显;而接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果较接种花生白绢病病原菌40d的防治效果有一定的上升趋势,且此时接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果不仅优于接种*Bacillus velezensis* DPT-03无菌发酵液的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果,而且也优于接种处理药剂的花生盆栽对于花生白绢病的防治效果。因此,说明在花生植株培育的过程中,*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液中的菌体能够在盆栽土壤中稳定繁殖,并不断产生具有抑制花生白绢病病原菌的活性物质,从而具有持续防控花生白绢病病原菌的作用,并能够有效降低花生白绢病的发病率,提高花生白绢病的防治效果。

#### [0146] 实施例7

[0147] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的玉米盆栽。利用的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液为实施例3制备的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液。

[0148] 上述盆栽的制备方法如下:

[0149] (1) 制备玉米盆栽:将2kg土壤与1g复合肥料15-15-15混合均匀,并置于花盆中,将3粒饱满健康的玉米粒埋入土壤中,待15d后进行间苗,每盆保留1棵玉米苗;

[0150] (2) 病原菌的接种:20d后将玉米小斑病病原菌接种到玉米盆栽的土壤中,接种量为20mL,浓度为 $1.0 \times 10^8$ CFU/mL;

[0151] (3) 菌悬液的接种:玉米小斑病病原菌接种2d后将浓度为 $1.0 \times 10^9$ CFU/mL的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液接种到玉米盆栽的土壤中,接种量为每个盆栽20mL,制得包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的盆栽。

#### [0152] 对比例3

[0153] 本对比例提供了一种玉米盆栽。其制备方法与实施例7的不同之处在于:

[0154] 步骤(3)为:多菌灵农药的接种:玉米小斑病病原菌接种2d后将多菌灵农药接种到玉米盆栽的土壤中,接种量为每个盆栽20mL,制得玉米盆栽。其中,多菌灵农药稀释500倍使用。

#### [0155] 对比例4

[0156] 本对比例提供了一种玉米盆栽。其制备方法与实施例7的不同之处在于:

[0157] 步骤(3)为:无菌水的接种:玉米小斑病病原菌接种2d后将无菌水接种到玉米盆栽的土壤中,接种量为每个盆栽20mL,制得包括无菌水的盆栽。

#### [0158] 检测试验三

[0159] 以实施例7、对比例3、对比例4制备的玉米盆栽为检测对象,上述每种盆栽分别设

置30个平行,检测各盆栽的发病情况。

[0160] 一、检测方法

[0161] 分别在玉米盆栽接种玉米小斑病病原菌30d、60d时,对玉米盆栽的发病情况进行检测,统计玉米盆栽的发病率和防治效果。

[0162] 二、计算方法

[0163] 发病率和防治效果的计算公式与“检测试验二”中相应的公式相同。

[0164] 三、检测结果

[0165] 检测结果如表2所示。

[0166] 表2检测试验三的检测结果

检测对象	接种玉米小斑病病原菌的时间 (d)			
	30		60	
	发病率 (%)	防治效果 (%)	发病率 (%)	防治效果 (%)
实施例 7	10.00	57.08	26.67	50.00
对比例 3	13.30	42.92	30.00	43.37
对比例 4	23.30	/	53.33	/

[0168] 如表2所示的检测结果,通过对比例4的检测结果,可知玉米盆栽在接种玉米小斑病病原菌30d时玉米植株的发病率即达到了23.30%。而通过实施例7、对比例3的检测结果,可知同样在接种玉米小斑病病原菌30d,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液、处理药剂的玉米盆栽中玉米植株的发病率分别为10.00%、13.30%,防治效果分别达到了57.08%、42.92%。由上述结果可知,本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液能够在短期内降低玉米植株的发病率。故在玉米植株培育的过程中,本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液能够有效改善短期内玉米植株出现玉米小斑病的情况。

[0169] 通过对比玉米盆栽接种玉米小斑病病原菌60d时实施例7、对比例3、对比例4的结果可知,此时,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的玉米盆栽对于玉米小斑病的防治效果达到了50.00%,接种处理药剂的玉米盆栽对于玉米小斑病的防治效果达到了43.37%。由上述结果可知,当玉米盆栽接种玉米小斑病病原菌60d时,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的玉米盆栽对于玉米小斑病的防治效果较接种玉米小斑病病原菌30d的防治效果均有所下降,且该防治效果仍优于接种处理药剂的玉米盆栽对于玉米小斑病的防治效果。故在玉米植株培育的过程中,本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液能够有效降低玉米小斑病的发病率,对玉米小斑病具有较好的防治效果。

[0170] 实施例8

[0171] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的棉花盆栽。利用的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液为实施例3制备的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液。

[0172] 上述盆栽的制备方法如下:

[0173] (1) 制备棉花盆栽:将2kg土壤与1g复合肥料15-15-15混合均匀,并置于花盆中,将

3粒饱满健康的棉花粒埋入土壤中,待15d后进行间苗,每盆保留1棵棉花苗;

[0174] (2) 病原菌的接种:20d后将棉花枯萎病病原菌接种到棉花盆栽的土壤中,接种量为20mL,浓度为 $1.0 \times 10^8$ CFU/mL;

[0175] (3) 菌悬液的接种:棉花枯萎病病原菌接种10d后将浓度为 $1.0 \times 10^9$ CFU/mL的 *Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液接种到棉花盆栽的土壤中,接种量为每个盆栽20mL,制得包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的盆栽。

[0176] 实施例9

[0177] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的棉花盆栽。

[0178] 上述盆栽的制备方法与实施例8中的制备方法的不同之处在于:

[0179] 步骤(3)中接种的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度为 $2.0 \times 10^9$ CFU/mL。

[0180] 实施例10

[0181] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的棉花盆栽。

[0182] 上述盆栽的制备方法与实施例8中的制备方法的不同之处在于:

[0183] 步骤(3)中接种的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度为 $4.0 \times 10^9$ CFU/mL。

[0184] 对比例5

[0185] 本对比例提供了一种棉花盆栽。其制备方法与实施例8的不同之处在于:

[0186] 步骤(3)为:无菌水的接种:棉花枯萎病病原菌接种10d后将无菌水接种到棉花盆栽的土壤中,接种量为每个盆栽20mL,制得包括无菌水的盆栽。

[0187] 检测试验四

[0188] 以实施例8、实施例9、实施例10、对比例5制备的棉花盆栽为检测对象,上述每种盆栽分别设置30个平行,检测各盆栽的发病情况。

[0189] 一、检测方法

[0190] 分别在棉花盆栽接种棉花枯萎病病原菌25d时,对棉花盆栽的发病情况进行检测,统计棉花盆栽的发病率和防治效果。

[0191] 二、计算方法

[0192] 发病率和防治效果的计算公式与“检测试验二”中相应的公式相同。

[0193] 三、检测结果

[0194] 检测结果如表3所示。

[0195] 表3检测试验四的检测结果

检测对象	接种棉花枯萎病病原菌 25d	
	发病率 (%)	防治效果 (%)
[0196] 实施例 8	16.2	48.57
实施例 9	9.0	71.42
实施例 10	5.4	82.85
对比例 5	31.5	-

[0197] 如表3所示的检测结果,通过对比例5的检测结果,可知棉花盆栽在接种棉花枯萎病病原菌25d时棉花盆栽的发病率即达到了31.5%。而通过实施例8、实施例9以及实施例10的检测结果,可知同样在接种棉花枯萎病病原菌25d,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的棉花盆栽的发病率分别为16.2%、9.0%、5.4%,防治效果分别达到了48.57%、71.42%、82.85%。由上述结果可知,在棉花盆栽培育的过程中,本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液能够有效降低棉花枯萎病的发病率,对棉花枯萎病具有较好的防治效果。且通过实施例8、实施例9以及实施例10的检测结果的对比,可知提高*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度,能够进一步提高*Bacillus velezensis* DPT-03对棉花枯萎病的防治效果。

#### [0198] 实施例11

[0199] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的番茄盆栽。利用的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液为实施例3制备的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液。

[0200] 上述盆栽的制备方法如下:

[0201] (1) 制备番茄盆栽:将番茄种子播种于灭菌基质中,当番茄苗长出6张真叶时,将花生苗移栽至盆栽中;采用直径约15cm的塑料盆,盆底垫20目尼龙网,每盆装土约2kg;

[0202] (2) 病原菌的接种:将番茄叶霉病病原菌接种到番茄盆栽的土壤中,接种量为20mL,浓度为 $1.0 \times 10^8$ CFU/mL;

[0203] (3) 菌悬液的接种:番茄叶霉病病原菌接种24h后将浓度为 $1.0 \times 10^9$ CFU/mL的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液接种到番茄盆栽的土壤中,接种量为每个盆栽20mL,制得包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的盆栽。

#### [0204] 实施例12

[0205] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的番茄盆栽。

[0206] 上述盆栽的制备方法与实施例11中的制备方法的不同之处在于:

[0207] 步骤(3)中接种的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度为 $2.0 \times 10^9$ CFU/mL。

#### [0208] 实施例13

[0209] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的番茄盆栽。

[0210] 上述盆栽的制备方法与实施例11中的制备方法的不同之处在于:

[0211] 步骤(3)中接种的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度为 $4.0 \times 10^9$ CFU/

mL\。

[0212] 对比例6

[0213] 本对比例提供了一种番茄盆栽。其制备方法与实施例11的不同之处在于：

[0214] 步骤(3)为：无菌水的接种：番茄叶霉病病原菌接种24h后将无菌水接种到番茄盆栽的土壤中，接种量为每个盆栽20mL，制得包括无菌水的盆栽。

[0215] 检测试验五

[0216] 以实施例11、实施例12、实施例13、对比例6制备的番茄盆栽为检测对象，上述每种盆栽分别设置10个平行，检测各盆栽的发病情况。

[0217] 一、检测方法

[0218] 分别在番茄盆栽接种番茄叶霉病病原菌30d时，对番茄盆栽的发病情况进行检测，统计番茄盆栽的发病率和防治效果。

[0219] 二、计算方法

[0220] 发病率和防治效果的计算公式与“检测试验二”中相应的公式相同。

[0221] 三、检测结果

[0222] 检测结果如表4所示。

[0223] 表4检测试验五的检测结果

检测对象	接种番茄叶霉病病原菌 30d	
	发病率 (%)	防治效果 (%)
[0224] 实施例 11	25.2	67.06
实施例 12	19.8	74.12
实施例 13	13.5	82.35
对比例 6	76.5	-

[0225] 如表4所示的检测结果，通过对比例6的检测结果，可知番茄盆栽在接种番茄叶霉病病原菌30d时番茄盆栽的发病率即达到了76.5%。而通过实施例11、实施例12以及实施例13的检测结果，可知同样在接种番茄叶霉病病原菌30d，接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的番茄盆栽的发病率分别为25.2%、19.8%、13.5%，防治效果分别达到了67.06%、74.12%、74.12%。由上述结果可知，在番茄盆栽培育的过程中，本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液能够有效降低番茄叶霉病的发病率，对番茄叶霉病具有较好的防治效果。且通过实施例11、实施例12以及实施例13的检测结果的对比，可知提高*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度，能够进一步提高*Bacillus velezensis* DPT-03对番茄叶霉病的防治效果。

[0226] 实施例14

[0227] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的番茄盆栽。利用的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液为实施例3制备的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液。

[0228] 上述盆栽的制备方法如下：

[0229] (1) 制备番茄盆栽:将番茄种子播种于灭菌基质中,当番茄苗长出6张真叶时,将花生苗移栽至盆栽中;采用直径约15cm的塑料盆,盆底垫20目尼龙网,每盆装土约2kg;

[0230] (2) 病原菌的接种:将番茄灰霉病病原菌接种到番茄盆栽的土壤中,接种量为20mL,浓度为 $1.0 \times 10^8$ CFU/mL;

[0231] (3) 菌悬液的接种:番茄灰霉病病原菌接种24h后将浓度为 $1.0 \times 10^9$ CFU/mL的 *Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液接种到番茄盆栽的土壤中,接种量为每个盆栽20mL,制得包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的盆栽。

[0232] 实施例15

[0233] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的番茄盆栽。

[0234] 上述盆栽的制备方法与实施例14中的制备方法的不同之处在于:

[0235] 步骤(3)中接种的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度为 $2.0 \times 10^9$ CFU/mL。

[0236] 实施例16

[0237] 本实施例提供了一种包括*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的番茄盆栽。

[0238] 上述盆栽的制备方法与实施例14中的制备方法的不同之处在于:

[0239] 步骤(3)中接种的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度为 $4.0 \times 10^9$ CFU/mL。

[0240] 对比例7

[0241] 本对比例提供了一种番茄盆栽。其制备方法与实施例14的不同之处在于:

[0242] 步骤(3)为:无菌水的接种:番茄叶霉病病原菌接种24h后将无菌水接种到番茄盆栽的土壤中,接种量为每个盆栽20mL,制得包括无菌水的盆栽。

[0243] 检测试验六

[0244] 以实施例14、实施例15、实施例16、对比例7制备的番茄盆栽为检测对象,上述每种盆栽分别设置10个平行,检测各盆栽的发病情况。

[0245] 一、检测方法

[0246] 分别在番茄盆栽接种番茄灰霉病病原菌30d时,对番茄盆栽的发病情况进行检测,统计番茄盆栽的发病率和防治效果。

[0247] 二、计算方法

[0248] 发病率和防治效果的计算公式与“检测试验二”中相应的公式相同。

[0249] 三、检测结果

[0250] 检测结果如表5所示。

[0251] 表5检测试验六的检测结果

检测对象	接种番茄灰霉病病原菌 30d	
	发病率 (%)	防治效果 (%)
[0252] 实施例 14	18.9	73.08
实施例 15	13.5	80.77
实施例 16	8.1	88.46
对比例 7	70.2	-

[0253] 如表5所示的检测结果,通过对比例7的检测结果,可知番茄盆栽在接种番茄灰霉病病原菌30d时番茄盆栽的发病率即达到了70.2%。而通过实施例14、实施例15以及实施例16的检测结果,可知同样在接种番茄灰霉病病原菌30d,接种*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的番茄盆栽的发病率分别为18.9%、13.5%、8.1%,防治效果分别达到了73.08%、80.77%、88.46%。由上述结果可知,在番茄盆栽培育的过程中,本申请提供的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液能够有效降低番茄灰霉病的发病率,对番茄灰霉病具有较好的防治效果。且通过实施例14、实施例15以及实施例16的检测结果的对比,可知提高*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度,能够进一步提高*Bacillus velezensis* DPT-03对番茄灰霉病的防治效果。

[0254] 实施例17

[0255] 本实施例提供了*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液用于试验田的案例。利用的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液为实施例3制备的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液。

[0256] 试验田地址:河南正阳县张楼村。

[0257] 试验田基本情况:该试验田为多年花生连作田,地块平整,花生白绢病严重。

[0258] 试验田肥力:试验田0~20cm土壤肥力状况为:有机质11.60g/kg、碱解氮154.39mg/kg、速效磷( $P_2O_5$ )56.62mg/kg、速效钾( $K_2O$ )168.0mg/kg。

[0259] *Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液用于试验田的方法如下:

[0260] (1) 利用农用喷雾器一次性将*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液以10L/亩的浓度喷入土壤,*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液的浓度为 $1 \times 10^9$ cfu/mL,然后对试验田进行翻地;

[0261] (2) 翻地后在试验田内播种花生。

[0262] 对比例8

[0263] 本对比例提供了处理药剂用于试验田的案例。

[0264] 本对比例与实施例17的不同之处在于利用处理药剂代替实施例17中的*Bacillus velezensis* DPT-03菌悬液。处理药剂为噻呋酰胺农药。其中,噻呋酰胺农药为240g/L噻呋酰胺悬浮剂,亩用量为100ml,稀释100倍使用。

[0265] 对比例9

[0266] 本对比例提供了无菌水用于试验田的案例。

[0267] 本对比例与实施例17的不同之处在于利用无菌水代替实施例17中的*Bacillus*

velezensis DPT-03菌悬液。

[0268] 检测试验七

[0269] 以实施例17、对比例8、对比例9提供的案例为检测对象。检测各案例中花生白绢病病原菌的田间防治效果。

[0270] 一、检测方法

[0271] 在试验田随机取组排列,每个案例选取3个小组,每个小组面积为180m<sup>2</sup>,统计各案例的发病率、病情指数和防治效果。

[0272] 二、计算方法

[0273] 发病率和防治效果的计算公式与“检测试验二”中相应的公式相同。

[0274] 三、检测结果

[0275] 检测结果如表6所示。

[0276] 表6检测试验七的检测结果

[0277]

检测对象	调查株数(株)	发病株数(株)	发病率(%)	防治效果(%)
实施例17	300	33b	11.00b	63.61
对比例8	300	37b	12.33b	62.21
对比例9	300	80a	26.67a	-

[0278] 如表6所示的检测结果,通过对比例9的检测结果,接种无菌水的试验田中花生植株的发病率为26.67%,而通过实施例17、对比例8的检测结果,可知接种Bacillus velezensis DPT-03菌悬液、处理药剂的试验田中,花生植株的发病率分别为11.00%、12.33%,防治效果分别为63.61%、62.21%。由上述结果可知,Bacillus velezensis DPT-03菌悬液能够减少试验田中花生白绢病的发病率和病情指数,提高试验田中花生白绢病的防治效果。同时,不仅利用Bacillus velezensis DPT-03菌悬液对于试验田中花生白绢病的当季防治效果高于利用处理药剂对于试验田中花生白绢病的防治效果,而且对于生物防治的持续性和安全性而言,利用Bacillus velezensis DPT-03菌悬液进行试验田中花生白绢病的防治具有更大的应用潜力和安全性。

[0279] 本具体实施例仅仅是对本申请的解释,其并不是对本申请的限制,本领域技术人员在阅读完本说明书后可以根据需要对本实施例做出没有创造性贡献的修改,但只要在本申请的权利要求范围内都受到专利法的保护。

## 序列表

<110> 北京世纪阿姆斯生物工程有限公司

北京世纪阿姆斯生物技术有限公司

<120> 一种贝莱斯芽孢杆菌及其应用

<160> 1

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 1514

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 1

```

agagtttgat cctggetcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgagc 60
ggacagatgg gagcttgctc cctgatgtta gcggcggacg ggtgagtaac acgtgggtaa 120
cctgcctgta agactgggat aactccggga aaccggggct aataccgat ggttgtttga 180
accgcatggt tcagacataa aaggtggctt cggctaccac ttacagatgg accgcggcg 240
cattagctag ttggtgaggt aacggctcgc caaggcgacg atgcgtagcc gacctgagag 300
ggtgatcggc cacactggga ctgagacacg gccagactc ctacgggagg cagcagtagg 360
gaatcttccg caatggacga aagtctgacg gagcaacgcc gcgtgagtga tgaaggtttt 420
cggatcgtaa agctctgttg ttagggaaga acaagtgccg ttcaaatagg gcggcacctt 480
gacggtacct aaccagaaag ccacggctaa ctacgtgcca gcagccgcgg taatacgtag 540
gtggcaagcg ttgtccgaa ttattgggcg taaagggctc gcaggcggtt tcttaagtct 600
gatgtgaaaag cccccggctc aaccggggag ggtcattgga aactggggaa cttgagtgca 660
gaagaggaga gtggaattcc acgtgtagcg gtgaaatgcg tagagatgtg gaggaacacc 720
agtggcgaag gcgactctct ggtctgtaac tgacgctgag gagcgaaagc gtggggagcg 780
aacaggatta gataccctgg tagtccacgc cgtaaacgat gagtgctaag tgttaggggg 840
tttccgcccc ttagtgctgc agtaacgca ttaagcactc cgcctgggga gtacggctgc 900
aagactgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg cccgcacaag cgggtggagca tgtggtttaa 960
ttcgaagcaa cgcaagaac cttaccaggt cttgacatcc tctgacaatc ctggagatag 1020
gacgtcccct tcgggggcag agtgacaggt ggtgcatggt tgtcgtcagc tcgtgtcgtg 1080
agatgttggg ttaagtcccg caacgagcgc aacccttgat cttagttgcc agcattcagt 1140
tgggcactct aaggtgactg ccggtgacaa accggaggaa ggtggggatg acgtcaaadc 1200
atcatgcccc ttatgacctg ggctacacac gtgctacaat ggacagaaca aagggcagcg 1260
aaaccgcgag gttaagccaa tcccacaaat ctgttctcag ttcggatcgc agtctgcaac 1320
tcgactgcgt gaagctggaa tcgctagtaa tcgcggatca gcatgccgcg gtgaatacgt 1380
tcccgggcct tgtacacacc gcccgtcaca ccacgagagt ttgtaacacc cgaagtcggt 1440
gaggtaacct ttaggagcc agccgccgaa ggtgggacag atgattgggg tgaagtcgta 1500
acaaggtagc cgta 1514

```

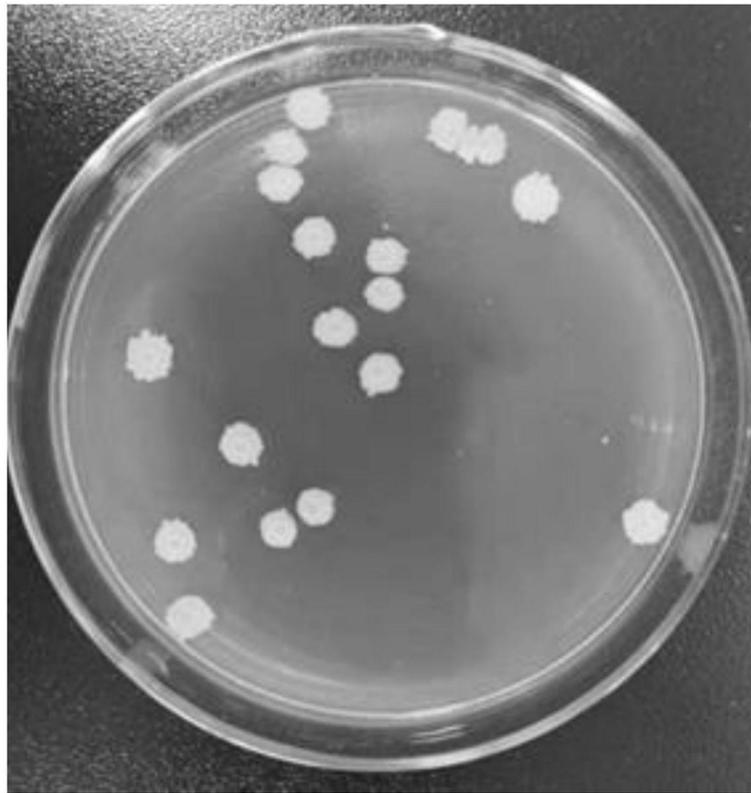


图1

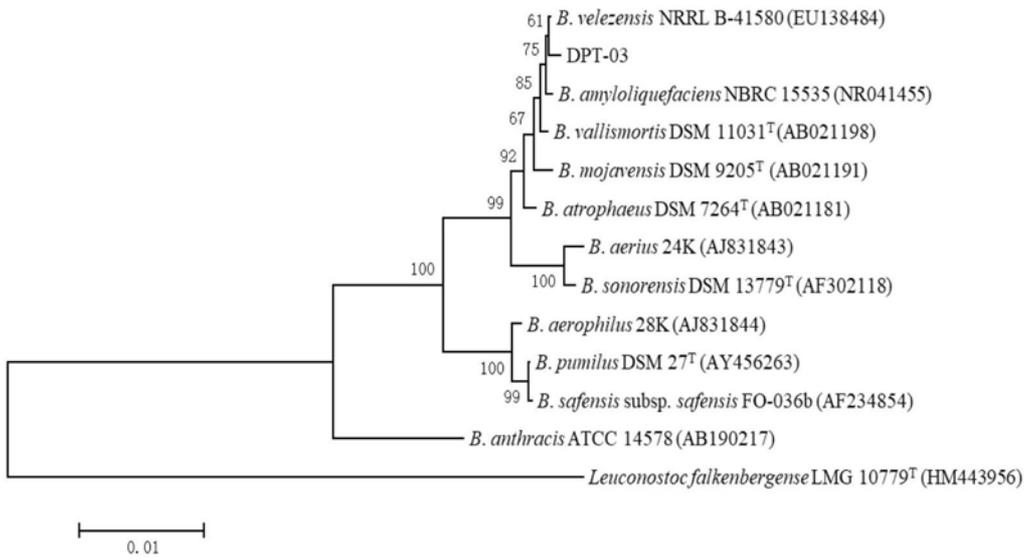


图2



图3



图4



图5

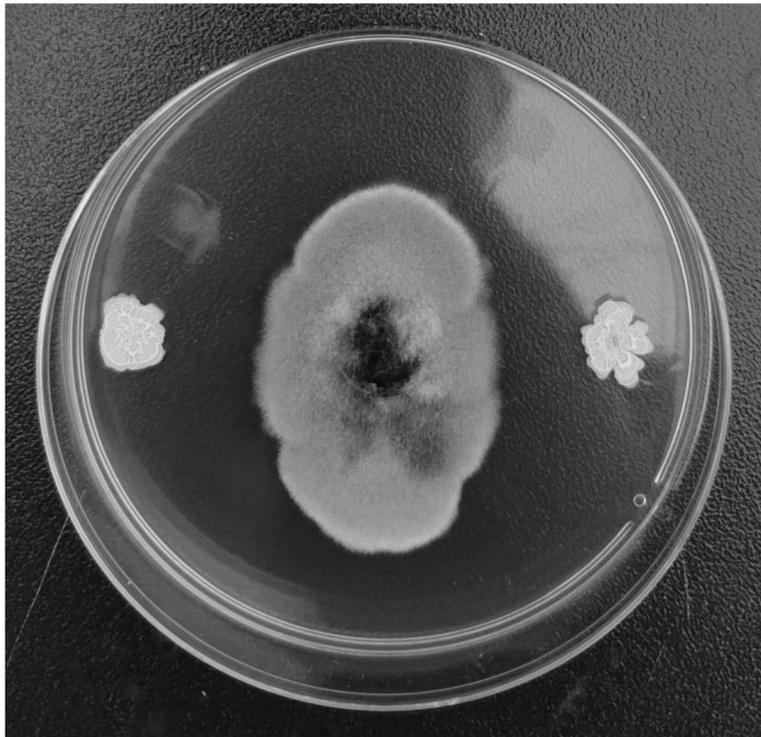


图6

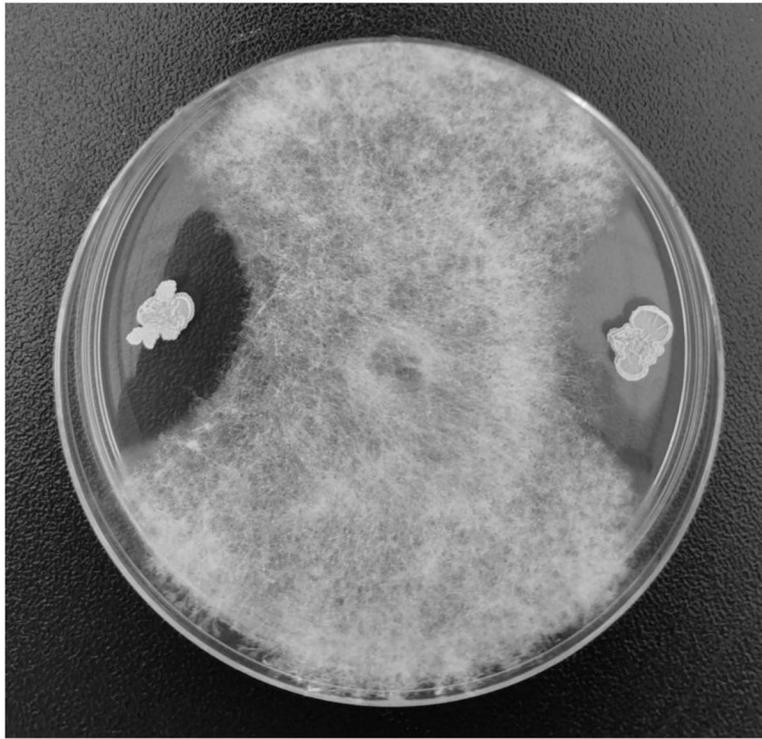


图7

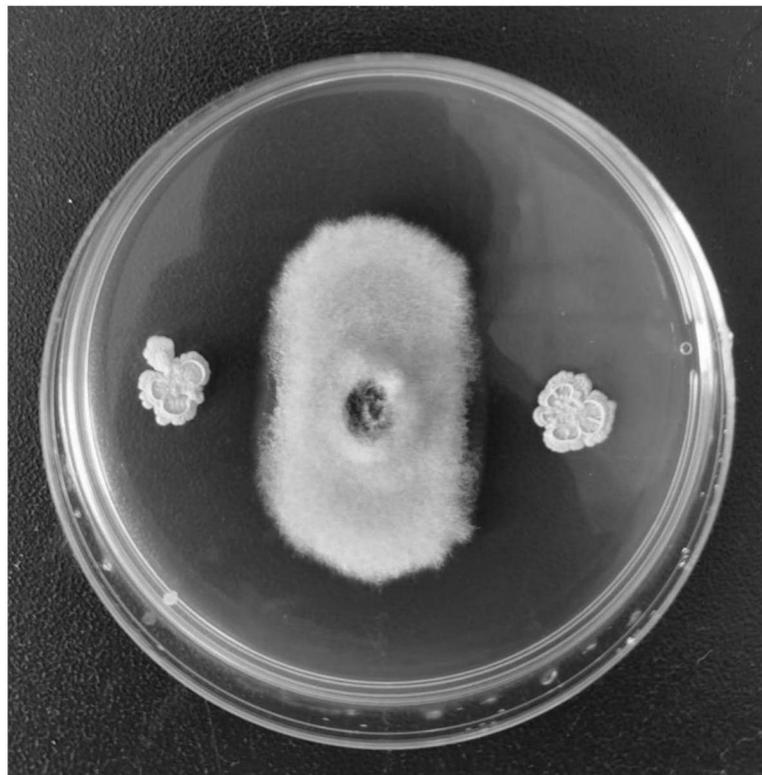


图8

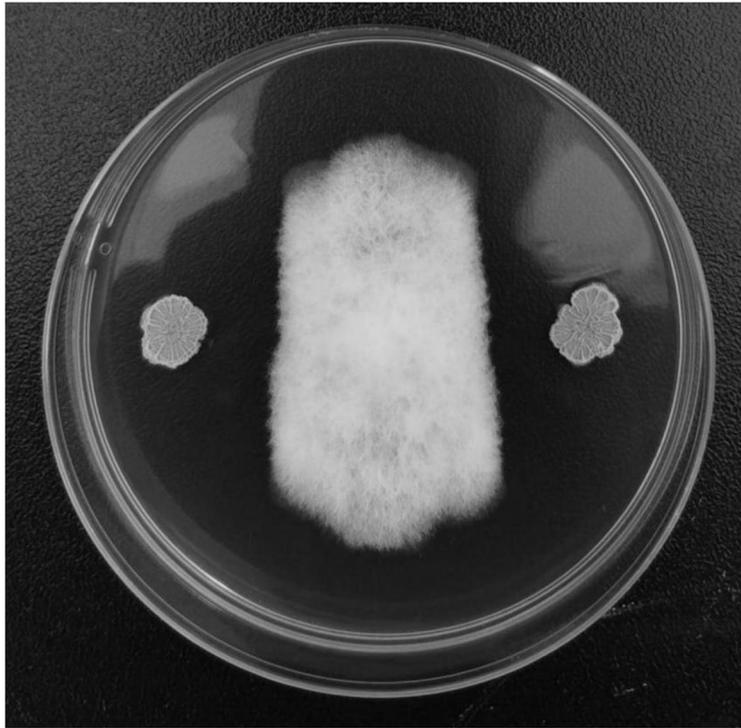


图9

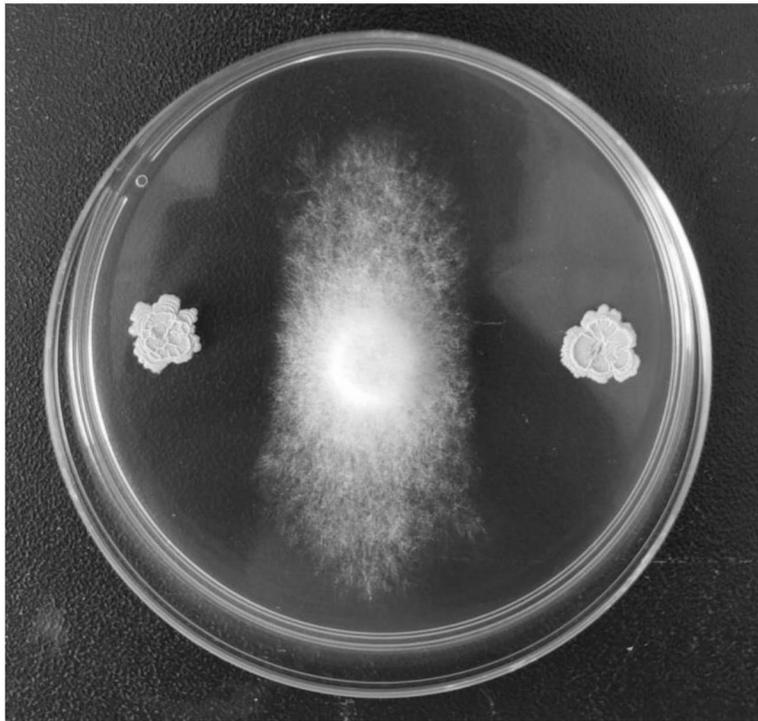


图10