



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116114712 A

(43) 申请公布日 2023.05.16

(21) 申请号 202211490906.7

A01P 3/00 (2006.01)

(22) 申请日 2022.11.25

(83) 生物保藏信息

CGMCCNo.10722 2015.04.15

(71) 申请人 安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所

地址 230031 安徽省合肥市农科南路40号

(72) 发明人 谷春艳 潘锐 陈永梅 杨雪
徐会永 臧昊昱

(74) 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有限公司 44245

专利代理师 高宁馨

(51) Int. Cl.

A01N 63/22 (2020.01)

A01N 43/56 (2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种包含解淀粉芽孢杆菌杀菌组合物及其应用

(57) 摘要

本发明属于农用杀菌剂领域,具体为一种包含解淀粉芽孢杆菌杀菌组合物,其特征在于,包含解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺;所述解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺的质量配比为100:1-1:10。本发明利用生物防治与化学防治相结合的防治策略,既能减少化学药剂的施用量、提高生物防治的稳定性,又能达到有效控制病害的效果,组合物表现为显著的增效作用。

1. 一种包含解淀粉芽孢杆菌杀菌组合物,其特征在于,包含解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺;所述解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺的质量配比为100:1-1:10;

解淀粉芽孢杆菌WHIG保藏于在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CGMCCNo.10722;

解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂浓度 1×10^6 - 1×10^{10} cfu/mL。

2. 根据权利要求1所述的杀菌组合物,其特征在于,解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂浓度 1×10^7 - 1×10^9 cfu/mL;所述解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺的质量配比为80:1-10:1。

3. 根据权利要求2所述的杀菌组合物,其特征在于,解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂浓度 1×10^8 cfu/mL;所述解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺的质量配比为80:1-10:1。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的杀菌组合物,其特征在于,还包含农药上辅料成分,制备成农药制剂。

5. 根据权利要求4所述的杀菌组合物,其特征在于,所述农药制剂为悬浮剂、可湿性粉剂、水分散粒剂。

6. 根据权利要求1-5任一项所述的杀菌组合物用于防治作物病害的用途。

7. 根据权利要求5所述的用途,其特征在于,所述的作物病害为油菜菌核病。

一种包含解淀粉芽孢杆菌杀菌组合物及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于农用杀菌剂领域,具体涉及一种包含解淀粉芽孢杆菌杀菌组合物及其应用。

背景技术

[0002] 油菜属于被子植物门(*Angiospermae*)、双子叶植物纲(*Dicotyledons*)、五桠果亚纲(*Dilleniidae*)、白花菜目(*Brassicales*)、十字花科(*Brassicaceae*)、芸薹属(*Brassica*)。油菜不仅具有经济价值,还具有观赏价值,开花时可以用来进行观赏,油菜花凋谢之后可以榨成菜籽油食用,而且油菜的药用价值和工业价值也很高。目前,中国油菜种植面积是全世界的第二位,仅在印度之后。油菜在国内主要的种植地在安徽、四川、江西、江苏、河南等地。

[0003] 油菜是我国最重要的油料作物,也是世界四大油料作物之一,种子含油量为33%-50%,具有重要的经济价值,且在医药、食品和工业原料等方面应用广泛。油菜的生育期长,病害种类繁多。其中,为害最严重的是菌核病。油菜在生育期内,油菜菌核病均可能发生,以开花结果期发病最重。病菌能侵染油菜植株地上各部分,尤以茎秆发病后造成的损失最大。病菌大多数是从开败的残花进行侵染,最开始表现为水渍状或苍白状,之后花瓣飘落引起茎叶发病。植株茎部感染菌核病后,最初表现为水渍状病斑,随后病斑逐渐变成褐色,往里凹陷,并长出白色絮状菌丝和黑色鼠粪状的菌核,当空气变得干燥时,茎基部的病部会干枯萎缩并死亡。植株叶片感染菌核病,最初主要表现为病斑呈暗青色水渍状并且不规则,有同心轮纹出现。当空气变得潮湿时,病斑生长速度变快,导致叶片快速腐烂,随后,病部就会长出白色絮状菌丝和黑色鼠粪状的小菌核。油菜菌核病的典型症状就是病部长出白色絮状霉菌和黑色鼠粪状的菌核。

[0004] 长期以来,防治油菜菌核病主要依赖化学防治。施用杀菌剂对油菜菌核病有一定的防控效果,但作用效果受施药时间、植株发育阶段及环境条件等多种因素影响,且大量使用化学药剂不但会积累化学农药残留,影响人体健康,更会破坏生态平衡,引起环境污染。长期使用化学药剂会导致病原菌产生抗药性,导致防效下降甚至失败,这迫使人们寻求更加安全有效的防治途径。油菜作为世界性油料作物,在食品、医药等方面应用甚广,使用生防菌防治病害,不仅可以减少化学农药的使用,还能减轻对环境的污染,作为一种对环境友好的防治技术越来越受到人们的青睐。

[0005] 解淀粉芽孢杆菌属革兰阳性芽孢杆菌,是一种与枯草芽孢杆菌亲缘性很高的细菌,在自然界中分布广泛。解淀粉芽孢杆菌生长过程中可以产生一系列具有广泛地抑制真菌和细菌的活性的代谢产物,在生物防治方面具有广阔的应用前景,已逐步成为具有生物农药开发潜力的微生物。解淀粉芽孢杆菌WHIG由安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所水稻病害防治课题组分离获得,并于2015年04月15日保藏于在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CGMCCNo.10722。该菌株命名为WHIG,分类命名:解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) (参考CN107136120A)。

[0006] 氟唑菌酰胺是新型吡唑酰胺类杀菌剂,属于琥珀酸脱氢酶抑制剂(SDHI)类杀菌剂,为吡唑-4-酰胺类化合物,结构新颖、活性高、杀菌剂谱广;但是氟唑菌酰胺目前的生产和使用成本均较高,并且长期单独使用也有很大的抗性风险。

[0007] 利用生物防治与化学防治相结合的防治策略,既能减少化学药剂的施用量、提高生物防治的稳定性,又能达到有效控制病害的效果,现有技术中并没有将解淀粉芽孢杆菌WHIG和氟唑菌酰胺组合使用的相关报道。申请人研究发现,解淀粉芽孢杆菌WHIG和氟唑菌酰胺组合对油菜菌核病具有很好的协同增效作用。

发明内容

[0008] 本发明利用生物防治与化学防治相结合的防治策略,既能减少化学药剂的施用量、又能提高生物防治的稳定性,且组合物表现为显著的增效作用。

[0009] 本发明的技术方案为:

一种包含解淀粉芽孢杆菌杀菌组合物,其特征在于,包含解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺;所述解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺的质量配比为100:1-1:10;解淀粉芽孢杆菌WHIG保藏于在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CGMCCNo.10722;解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂浓度 1×10^6 - 1×10^{10} cfu/mL。

[0010] 优选的,解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂浓度 1×10^7 - 1×10^9 cfu/mL;所述解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺的质量配比为80:1-10:1。进一步优选为,解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂浓度 1×10^8 cfu/mL;所述解淀粉芽孢杆菌WHIG菌剂和氟唑菌酰胺的质量配比为80:1-10:1。

[0011] 所述的杀菌组合物还包含农药上辅料成分,制备成农药制剂。所述农药制剂为悬浮剂、可湿性粉剂、水分散粒剂。所述辅料选择本领域常规辅料成分,采用常规制备方法进行配制。

[0012] 所述的杀菌组合物可用于防治作物病害。优选作物病害为油菜菌核病。

[0013] 采用上述技术方案,本发明具有如下有益效果:

本发明利用生物防治与化学防治相结合的防治策略,既能减少化学药剂的施用量、提高生物防治的稳定性,又能达到有效控制病害的效果。

[0014] 当WHIG菌悬液与氟唑菌酰胺的质量配比为80:1-10:1时,组合物表现对油菜菌核病菌表现为协同增效作用,不仅可以有效降低单剂的使用剂量,还能延缓病菌抗药性的产生。

具体实施方式

[0015] 下面结合具体的实施方式对本发明做进一步的解释说明。

[0016] 实施例1:复配药剂对油菜菌核病的室内毒力测试

1.1 供试材料

生防菌:解淀粉芽孢杆菌WHIG,安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所。用改良的NA培养基(牛肉浸膏1.0g、蛋白胨5.0g、酵母膏5.0g、NaCl5.0g、蔗糖10.0g、琼脂20.0g、蒸馏水1000mL,pH值6.8-7.0),于28℃恒温箱内培养。配置解淀粉芽孢杆菌WHIG菌悬液,浓度含量 1×10^8 cfu/mL。

[0017] 油菜菌核病病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 由安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所分离、筛选、鉴定和保存。

[0018] 氟唑菌酰胺, 市购。

[0019] 1.2 测试方法

采用菌丝生长速率法。在预实验的基础上, 配制含不同梯度浓度药剂的PDA平板, 将油菜菌核病病菌菌块(直径5mm)放在含药平板中央, 放置于28℃培养箱中培养。并设置对照, 各处理重复4次。待对照菌落长满培养皿2/3时, 采用十字交叉法量取各处理的菌落直径, 计算平均抑制率。

[0020] 平均抑制率 = $[(\text{对照组菌落直径平均值} - \text{处理组菌落直径平均值}) / (\text{对照组菌落直径平均值} - 5.0)] \times 100\%$ 。

[0021] 将菌丝生长抑制率换算成抑制机率值(y), 药剂浓度换算成浓度对数(x), 按浓度对数为横坐标、机率值为纵坐标作毒力回归直线, 求得单剂及其混剂对病菌的毒力回归方程, 并计算 EC_{50} 值及相关系数r值。

[0022] 依孙云沛法计算出各药剂的毒力指数及混剂的共毒系数(CTC值), 即 $CTC \leq 80$ 为拮抗作用, $80 < CTC < 120$ 为相加作用, $CTC \geq 120$ 为增效作用。

[0023] 共毒系数(CTC) = 混剂实测毒力指数(ATT) / 混剂理论毒力指数(TTI)。

[0024] 实测毒力指数(ATI) = 标准药剂 EC_{50} / 供试药剂 $EC_{50} \times 100$

理论毒力指数(TTI) = A药剂毒力指数 \times 混剂中A的百分含量 + B药剂毒力指数 \times 混剂中B的百分含量。

[0025] 1.3 测试结果

由表1可知, WH1G菌悬液对油菜菌核病菌的 EC_{50} 值为20.68mg/L; 氟唑菌酰胺对油菜菌核病菌的 EC_{50} 值为0.19mg/L。当WH1G菌悬液与氟唑菌酰胺的质量配比为80:1-10:1时对油菜菌核病菌表现为协同增效作用, 其它配比条件下表现为相加作用。当组合物表现为增效作用时, 可以有效减低单剂的使用剂量, 并减缓病害抗药性的产生。

[0026] 表1复配药剂对油菜菌核病的室内毒力测试

质量配比	回归方程	相关系数 (r)	EC_{50} mg/L	CTC
WH1G 菌悬液	$y=2.7015+1.7473x$	0.9658	20.68	-
氟唑菌酰胺	$y=6.4342+1.9805x$	0.9742	0.19	-
80:1	$y=3.1836+2.2458x$	0.9912	6.44	137.7
40:1	$y=4.1472+1.3827x$	0.9832	4.14	137.6
10:1	$y=4.2318+3.9804x$	0.9789	1.56	122.7
1:1	$y=6.1658+2.3946x$	0.9880	0.33	114.1
1:10	$y=6.7802+2.4002x$	0.9814	0.18	116.0

备注: 菌悬液配置中1mL按照1g计算。

[0027] 实施例2:复配药剂对油菜菌核病的盆栽测试

2.1供试材料

生防菌:解淀粉芽孢杆菌WH1G,安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所。用改良的NA培养基(牛肉浸膏1.0g、蛋白胨5.0g、酵母膏5.0g、NaCl5.0g、蔗糖10.0g、琼脂20.0g、蒸馏水1000mL,pH值6.8-7.0),于28℃恒温箱内培养。配置解淀粉芽孢杆菌WH1G菌悬液,菌含量 1×10^8 cfu/mL。

[0028] 油菜菌核病病菌(*S.sclerotiorum*)由安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所分离、筛选、鉴定和保存。

[0029] 氟唑菌酰胺,市购。

[0030] 2.2测试方法

分别将不同浓度的药剂均匀喷施于油菜叶片的表面,24h后于叶片表面接种油菜菌核病病菌菌块。设置对照。每处理重复10株,试验重复3次。置于培养箱中保湿培养。分别于接种7d后调查发病情况,记录病害严重度,并计算病情指数。

[0031] 病害严重度分级标准:

0级,无病;

1级,发病面积占全叶面积小于5%;

3级,发病面积占全叶面积的5%-10%;

5级,发病面积占全叶面积的11%-30%;

7级,发病面积占全叶面积的31%-50%;

9级,发病面积占全叶面积大于50%。

[0032] 病情指数= $\Sigma[(\text{各级病株数} \times \text{相对病级数值}) / (\text{调查总株数} \times \text{最高病级数值})] \times 100$

防治效果(%)= $[(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数}] \times 100$

2.3测试结果

由表1可知,单独使用WH1G菌悬液对油菜菌核病的防治效果为50.9%;单独使用氟唑菌酰胺对油菜菌核病的防治效果为59.4%。将WH1G菌悬液与氟唑菌酰胺组合使用后可显著提升药剂对油菜菌核病的防治效果,具有显著的增效作用。

[0033] 表2复配药剂对油菜菌核病的盆栽测试

药剂	药剂/稀释倍数	7d	
		病情指数	防治效果%
WH1G 菌悬液:氟唑菌 酰胺=80:1	1g /500 倍	15.9	78.6
WH1G 菌悬液:氟唑菌 酰胺=40:1	1g /500 倍	12.4	83.3
WH1G 菌悬液:氟唑菌 酰胺=10:1	1g /500 倍	5.5	92.6
WH1G 菌悬液	1g /500 倍	36.5	50.9
氟唑菌酰胺	0.1g /500 倍	30.2	59.4
CK	-	74.3	-

备注:菌悬液配置中1mL按照1g计算。

[0034] 最后,还需要注意的是,以上列举的仅是本发明的若干个具体实施例。显然,本发明不限于以上实施例,还可以有很多变形。本领域的普通技术人员能从本发明公开的内同直接导出或联想到的所有变形,均认为是本发明的保护范围。