



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110042063 A

(43)申请公布日 2019.07.23

(21)申请号 201910329776.0

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2019.04.23

C12N 1/14(2006.01)

(66)本国优先权数据

C05F 11/08(2006.01)

201810652573.0 2018.06.22 CN

C12R 1/645(2006.01)

(83)生物保藏信息

CGMCC No.14782 2017.09.27

(71)申请人 北京农学院

地址 102206 北京市昌平区回龙观镇北农
路7号

(72)发明人 刘悦秋 尹静 于峰 蔡建超

刘天月

(74)专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理
有限公司 11129

代理人 向群

权利要求书1页 说明书7页
序列表2页 附图4页

(54)发明名称

一种红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3及其应用

(57)摘要

本发明“一种红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3及其应用”,属于微生物技术领域。所述红粉粘帚霉菌株YZC3的保藏编号为CGMCC No.14782。基于红粉粘帚霉菌株YZC3,本发明还提供一种可降解木质素的制品、用于降解木质素的菌剂、用于园林绿化废弃物堆肥的制品、用于园林绿化废弃物堆肥的菌剂,和一种园林绿化废弃物堆肥的方法。本发明的红粉粘帚霉菌株YZC3在降解木质素方面具有优异的效果。

1. 一种红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3,其保藏编号为CGMCC No.14782。
2. 一种可降解木质素的制品,其特征在于,所述制品的活性成分包括权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3。
3. 一种用于降解木质素的菌剂,包括用于降解木质素的活性成分;其特征在于,所述活性成分包括权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3;
优选地,所述菌剂还包括制备菌剂常用的辅料。
4. 用于园林绿化废弃物堆肥的制品,其特征在于,所述制品的活性成分包括权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3。
5. 用于园林绿化废弃物堆肥的菌剂,包括活性成分;其特征在于,所述活性成分包括权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3;
优选地,所述菌剂还包括制备菌剂常用的辅料。
6. 一种园林绿化废弃物堆肥的方法,其特征在于,包括:在堆肥过程中使用权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3。
7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,还包括园林绿化废弃物堆肥的常规步骤;
优选地,堆肥温度在50℃以上并维持5~7d。
8. 一种堆肥,其特征在于,由堆肥物料中添加,和/或,接种权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3制备而得。
9. 根据权利要求8所述的堆肥,其特征在于,所述堆肥物料包括园林绿化废弃物。

一种红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于微生物技术领域,具体涉及一种红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3 及其应用。

背景技术

[0002] 生物质能是十分重要的可再生能源,木质素作为生物质的的重要组成部分,一直备受关注。从20世纪开始,国内外一些专家学者就开始探索降解木质素的最佳途径。所涉及的研究方法 主要有物理法、化学法、生物法等。其中生物降解法因其有作用条件温和、专一性强、有利 环保和成本较低等优点而备受关注。木质素是广泛存在于生物质中的生物高分子,其单体结 构为苯基丙烷。每年园林废弃物中的木质素会以秸秆焚烧或制浆废水排放等方式被直接废弃, 或者直接以堆积废弃,造成生物质资源的浪费。在对木质素的回收应用中,生物降解可使木 质素转化为小分子物质,进而分离纯化为化工原料。其具有成本低廉、二次污染小等优势, 相比物理和化学法更受青睐。木质素结构复杂而稳定,生物降解难,故而微生物的降解能力 是决定性因素。

[0003] 实践表明,微生物降解木质素是最佳的途径,此法具有降解率高、安全环保、成本低、可再生等优点。同时,自然界中存在大量可以降解木质素的微生物,包括真菌、细菌、放线 菌,主要有来自土壤和动物消化道的微生物群组成。

[0004] 例如,专利申请201711207383.X提供了一种疣孢漆斑菌 (*Myrothecium verrucaria*) 突变 菌株T2901,保藏号为CCTCC NO:M2017413,该菌株木质素降解率可达42.30%。

[0005] 专利申请201711202906.1披露的是一种降解玉米秸秆的复合菌剂,其活性成分为黑曲霉 (*Aspergillus*)、木霉 (*Trichoderma*)、草酸青霉 (*Penicillium*)、黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*);或黑曲霉 (*Aspergillus*) 发酵液、木霉 (*Trichoderma*) 发酵液、草酸青霉 (*Penicillium*) 发酵液、黄孢原毛平革 (*Phanerochaete chrysosporium*) 发酵液,该复合菌剂木质素降解率为 28.5%。

[0006] 本领域尚需筛选、开发更多的木质素降解效果更好的新菌株,供生产实践选择和使用。

发明内容

[0007] 基于本领域的上述需求,本发明从土样中提取筛选出一株红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3,经鉴定,该菌株能有效降解木质素并可应用于园林废弃物堆肥。

[0008] 本发明的技术方案如下:

[0009] 一种红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3,其保藏编号为CGMCC No.14782。

[0010] 一种可降解木质素的制品,其特征在于,所述制品的活性成分包括权利要求1所述

的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3。

[0011] 一种用于降解木质素的菌剂,包括用于降解木质素的活性成分;其特征在于,所述活性成分包括权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3;

[0012] 优选地,所述菌剂还包括制备菌剂常用的辅料。

[0013] 用于园林绿化废弃物堆肥的制品,其特征在于,所述制品的活性成分包括权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3。

[0014] 用于园林绿化废弃物堆肥的菌剂,包括活性成分;其特征在于,所述活性成分包括权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3;

[0015] 优选地,所述菌剂还包括制备菌剂常用的辅料。

[0016] 一种园林绿化废弃物堆肥的方法,其特征在于,包括:在堆肥过程中使用权利要求1所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3。

[0017] 所述方法还包括园林绿化废弃物堆肥的常规步骤;

[0018] 优选地,堆肥温度在50℃以上并维持5~7d。

[0019] 一种堆肥,其特征在于,由堆肥物料中添加,和/或,接种所述的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3制备而得。

[0020] 所述堆肥物料包括园林绿化废弃物。

[0021] 本研究就从土样中提取筛选木质素降解菌并对降解菌株进行筛选鉴定,并应用于园林废弃物堆肥,探索其对堆肥效果的影响,既解决了环境问题,处理完后的废弃物又变为有机肥料回收利用,是一个资源良性循环的过程。

[0022] 本发明的红粉粘帚霉 (*Clonostachys rosea*) 菌株YZC3的保藏信息如下:

[0023] 命名:YZC3

[0024] 分类名称:红粉粘帚霉

[0025] 拉丁名称:*Clonostachys rosea*

[0026] 保藏号:CGMCC No.14782

[0027] 保藏机构:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心

保藏机构地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号

[0028] 保藏日期:2017年9月27日

附图说明

[0029] 图1为YZC3菌株愈创木酚显色反应结果;

[0030] 图2为YZC3菌株苯胺蓝脱色反应结果;

[0031] 图3为YZC3菌株产LiP、MnP酶实验结果;

[0032] 图4为YZC3菌株产Lac酶实验结果;

[0033] 图5为YZC3木质素降解率随时间变化;

[0034] 图6为堆肥温度变化曲线,图中的C3为YZC3组,CK为空白对照组;

[0035] 图7为YZC3菌株的显微形态图;

[0036] 图8为YZC3菌株ITS rDNA序列同源进化树。

具体实施方式

[0037] 下面结合具体实施例对本发明作进一步的详细说明,下述实施例只是说明性的,并不限制本发明保护范围。下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法;所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0038] 生物材料来源

[0039] 分离菌种的土壤采集自鹫峰林下腐殖土。枯枝落叶来源于北京农学院校园绿化废物。

[0040] 试剂与耗材

[0041] 分离培养基:PDA培养基、牛肉膏蛋白胨培养基(细菌)、高氏1号培养基(放线菌)、显色培养基:PDA-愈创木酚培养基、脱色培养基:PDA-苯胺蓝培养基,均可商购获得,或,根据本领域工具书记载的常规方法进行配制。

[0042] 第1组实施例、本发明的菌株

[0043] 本组实施例提供一种红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3,其保藏编号为CGMCC No.14782。

[0044] 基于本发明记载的内容,本发明的菌株可用来制备降解木质素的产品、以及园林绿化废弃物堆肥相关的产品。

[0045] 在一些实施例中,所述红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3被制成可降解木质素的制品,和/或,菌剂。

[0046] 在另一些实施例中,所述红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3被制成用于园林绿化废弃物堆肥的制品,和/或,菌剂。

[0047] 第2组实施例、本发明可降解木质素的制品

[0048] 本组实施例提供一种可降解木质素的制品。其特征在于,所述制品的活性成分包括第1组实施例任一项所述的红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3。

[0049] 第3组实施例、本发明可降解木质素的菌剂

[0050] 本组实施例提供一种用于降解木质素的菌剂,包括用于降解木质素的活性成分;其特征在于,所述活性成分包括第1组实施例任一项所述的红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3;

[0051] 在本组优选的实施例中,所述菌剂还包括制备菌剂常用的辅料。

[0052] 具体地,所述辅料选自,所述的红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3的培养基;或其它菌剂常用辅料,比如,载体、赋形剂、溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、润湿剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏合剂、整合剂、渗透促进剂、pH值调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等。

[0053] 第4组实施例、本发明用于园林绿化废弃物堆肥的制品

[0054] 本组实施例提供一种用于园林绿化废弃物堆肥的制品,其特征在于,所述制品的活性成分包括第1组实施例任一项所述的红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3。

[0055] 第5组实施例、本发明用于园林绿化废弃物堆肥的菌剂

[0056] 本组实施例提供一种用于园林绿化废弃物堆肥的菌剂,包括活性成分;其特征在

于,所述活性成分包括第1组实施例任一项所述的红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3;

[0057] 在本组优选的实施例中,所述菌剂还包括制备菌剂常用的辅料。

[0058] 在具体的实施例中,所述辅料选自,所述的红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3的培养基、载体、赋形剂、溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、润湿剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏合剂、整合剂、渗透促进剂、pH值调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等。

[0059] 第6组实施例、本发明的堆肥方法

[0060] 本组实施例提供一种园林绿化废弃物堆肥的方法,其特征在于,包括:在堆肥过程中使用第1组实施例任一项所述的红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3。

[0061] 在进一步的实施例中,所述方法还包括园林绿化废弃物堆肥的常规步骤;

[0062] 在具体的实施例中,所述常规步骤指,《园林绿化废弃物堆肥技术规程(DB11/T840-2011)》中记载的堆肥步骤,和/或,《中国粪便无害化卫生标准(GB7959-87)》中记载的步骤。

[0063] 在优选的实施例中,堆肥温度在50℃以上并维持5~7d。

[0064] 第7组实施例、本发明的堆肥

[0065] 本组实施例提供一种堆肥,其特征在于,由堆肥物料中添加,和/或,接种第1组实施例任一项所述的红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3制备而得。

[0066] 本组具体的实施例中,所述堆肥物料包括园林绿化废弃物。

[0067] 实验例、本发明菌株的筛选、鉴定及效果验证

[0068] 1实验材料

[0069] 分离菌种的土壤采集自鹫峰林下腐殖土。枯枝落叶来源于北京农学院校园绿化废弃物。

[0070] 2培养基

[0071] 分离培养基:PDA培养基、牛肉膏蛋白胨培养基(细菌)、高氏1号培养基(放线菌)、显色培养基:PDA-愈创木酚培养基、脱色培养基:PDA-苯胺蓝培养基

[0072] 3实验方法

[0073] 3.1土壤菌种分离

[0074] 配制无菌水,将土样按 10^{-3} 到 10^{-6} 的浓度梯度溶解到无菌水中,充分溶解。然后吸取混合液接种在PDA培养基上,置于28℃下培养5~7d。

[0075] 3.2菌种形态鉴定与纯化

[0076] 根据形态初步判定真菌、细菌和放线菌,并接到各自专用培养基上,反复接种纯化直至获得纯菌株,备用。

[0077] 3.3 PDA-愈创木酚平板显色反应

[0078] 将纯化后的菌种接于PDA-愈创木酚培养基平板上后,置28℃下培养5d,每天记录有无红棕色变色圈的产生及变色圈直径的大小,有红棕色圈者记为+,反之记为-。根据变色圈所产生的时间及变色圈的直径大小,检测出产Lac较高的菌株。

[0079] 3.4 PDA-苯胺蓝平板脱色反应

[0080] 将纯化后的菌种接于PDA-苯胺蓝培养基平板上,并将平板置28℃下避光培养10d,记录蓝色培养基中是否有退色圈的产生及退色圈直径的大小,有退色圈者记为+,反之记为-。根据退色圈产生的时间及退色圈的直径大小,检测出产MnP和LiP较高的菌株

[0081] 3.5产酶试验

[0082] 菌落边缘用打孔器打直径5mm孔,分别滴入数滴0.1mol/L用96%乙醇配制的 α -萘酚(紫色显色圈-Lac),现配的等量4%与1%焦酚混合液(黄褐色显色圈-LiP、MnP)。

[0083] 3.6酶活试验

[0084] 液体培养基于35℃,150r/min摇床中培养72h,取0.2ml接种于100ml产酶培养基中,相同条件下培养48h。每隔24h取样测定酶活,将培养好的液体发酵产酶培养基先用两层纱布过滤,取样完成后,再将滤液于4℃,10000r/min离心机离心15min,取上清液,即粗制酶液,待用。

[0085] 木质素过氧化物酶(LiP)活性的测定——藜芦醇法

[0086] 锰过氧化物酶(MnP)活性的测定—— Mn^{2+} 法

[0087] 漆酶(Lac酶)活性的测定——ABTS法

[0088] 3.7木质素降解能力测定

[0089] 将玉米秸秆粉碎过40目筛,分装于25个250mL三角瓶,每瓶20g,加入60mL营养液(具体为“海藻微量元素溶液”,购自ELITE biotech(Shanghai)Ltd公司),高温灭菌3h,接入YZC3接种,质量分数为10%。然后适温培养(28℃),培养箱内相对湿度保持在80%,共培养25d,5d后开始取样,以后每5d取一次样,每个处理取5瓶。每瓶取2g待测样品置于100mL锥形瓶中,加入50mL2mol/L HCl,100℃保温50min后用3号砂芯漏斗过滤,水洗残渣至pH为6.5~7.0。将上一步得到的滤渣80℃烘干,连同砂芯漏斗置于150mL烧杯中,加入10mL72%的 H_2SO_4 ,降解4h,加入90mL蒸馏水,室温过夜,次日用蒸馏水水洗残渣至pH=6.5,烘干至恒重为 W_2 , W_2 在550度的马弗炉中灰化,得灰分 W_1 ,木质素含量= W_2-W_1

[0090] 木质素降解率=(原始玉米秸秆木质素含量-固态发酵后玉米秸秆木质素含量)/原始玉米秸秆木质素含量 $\times 100\%$

[0091] 3.8堆肥实验

[0092] 提前将收集好的枯枝落叶与猪粪按1:1进行混合,同时加入菌并搅拌均匀,每个发酵池(体积1m³)加1L菌液,YZC3组加入添加了YZC3菌株的灭菌培养基;CK组为空白对照组,即加入与YZC3组等量的灭菌培养基,培养基中不加菌;重复3次,堆肥期间每天进行温度测定。堆肥47d后,将最后取的样进行自然晾干,晾干后用粉碎机粉碎以备测各种指标时使用。测定各项指标测定包括堆肥温度、pH值、C/N、种子发芽率、电导率、全氮、全磷、全钾、全碳、有机质、有机碳、腐殖酸。

[0093] 表1堆肥材料理化性质表

[0094]

N含量 (%)	P含量 (%)	K含量 (%)	有机质含量 (%)	有机碳含量 (%)	C含量 (%)	C/N	电导率 ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	pH值	腐殖酸 (%)
0.96	0.98	2.26	58.81	34.11	56.59	35.40	33.13	7.64	6.34

[0095] 3.9菌株鉴定

[0096] 形态学特征鉴定:将筛选出的木质素降解菌接种于PDA平板中,25℃,恒温培养7d,观察其菌落的生长情况、外观形态。

[0097] 分子鉴定:真菌18S rRNA片段测序,引物序列FR1:AICCATTC AATCGGTAIT (SEQ ID NO.1),NS1:GTAGTCATATGCTTGTCTC (SEQ ID NO.2),PCR扩增体系:DNA (70ng/μL) 模板2μL;dNTPMixture (2.5mM) 2.5μL;FR1 (20μM) 1.5μL;NS1 (20μM) 1.5μL;10×Ex Taq Buffer (Mg2+ plus) 5μL;Ex Taq酶 (5U/μL) 0.2μL;补足ddH₂O到50μL。扩增程序:94℃ 变性3min;94℃变性1min,50℃退火1min,72℃延伸2min,30个循环;72℃延伸5min。

[0098] 4结果与分析

[0099] 4.1木质素降解菌的筛选

[0100] 对土壤菌种初步的分离与纯化,从中分离纯化15种,将纯化后的菌种接于PDA-愈创木酚培养基上培养和PDA-苯胺蓝培养基上,如图1和图2所示,观测显色、脱色结果,发现一种既能显色也能脱色的真菌YZC3。

[0101] 对筛选出YZC3菌,进行下一步产酶试验。LiP、MnP产酶实验结果如图3和图4所示,向平板内打孔处滴加现配的等量4%与1%焦酚混合液,YZC3出现黄褐色显色圈,证明该菌能产生LiP、MnP酶。Lac产酶实验为向平板内打孔处滴加0.1mol/L用96%乙醇配制的α-萘酚溶液,YZC3出现紫色显色圈,证明此真菌能产生Lac。

[0102] 对YZC3木质素分解酶活力进行测试,发现YZC3具有较强的产LiP能力,并在第7天出现峰值,其活力为12.903U/L。YZC3产MnP能力略强,在10-12d出现酶活力高峰,峰值为104U/L。YZC3产Lac是在第8d出现活力峰值,为5.556U/L。

[0103] 对YZC3木质素降解能力的测定结果由图5的数据可知,YZC3对木质素的降解率随着固态发酵培养时间的延长而增加,25d时对木质素的降解率达到了最大值79.2%。

[0104] 4.2木质素降解菌YZC3对园林绿化废弃物堆肥的影响

[0105] 4.2.1 YZC3对堆肥腐熟的影响

[0106] 温度是判断堆肥腐熟程度的重要指标,一般来说堆肥过程中温度均经历明显的升温期,高温期,降温期和后期4个时期,当堆肥温度重新回到环境温度可视为堆肥初步成熟。从图6可见堆肥初期快速升至最高温度,持续6-7d后温度下降到50℃以下,经较长的后期后,温度回归到环境温度。中国粪便无害化卫生标准(GB7959-87)规定,堆肥温度在50℃以上并维持5~7d,就能达到符合粪便无害化卫生标准。本次堆肥各处理高温持续天数均超过5d,YZC3组处理高温天数比CK组多1天,说明YZC3有利于堆肥高温时间延长。

[0107] 种子发芽指数可以用来判断堆肥的植物毒性,是腐熟度指标的重要参数之一。众多研究者普遍认为,当发芽指数GI达到80%-85%时,堆肥就可认为没有植物毒性或者说堆肥已腐熟。从表2可见在堆肥47天时,各处理发芽指数均大于80%,且无显著差别,说明在堆肥47天时,各处理堆肥均已腐熟。

[0108] 碳氮比是堆肥腐熟程度的一个重要参考指标,碳氮比越低表明腐熟程度越高,一般认为,当碳氮比达到20-30堆肥基本腐熟,如表2所示,处理之间差异性显著,说明YZC3有助于堆肥的腐熟,降低碳氮比。

[0109] 表2菌剂堆肥腐熟程度指标

[0110]

	>50℃天数	二次发酵	C/N	电导率	PH 值	发芽指数
CK	6	3	30.69±2.92a	51.55±6.58b	8.10±0.09a	0.89±0.05a
YZC3	7	4	28.79±1.25b	56.50±0.70a	7.80±0.20a	0.85±0.13a

[0111] 上表中,“二次发酵”一列指堆肥过程中发生二次升温的天数;电导率也是评价腐熟程度的另一指标,电导率是以数字表示的溶液传导电流的能力,离子浓度越高导电能力越强。肥料中离子浓度越高,表明堆肥材料中有机物降解形成的无机盐离子的过程越彻底,说明堆肥腐熟程度越高。YZC3处理电导率显著高于空白,也说明YZC3对堆肥的腐熟程度有正面的影响,有助于堆肥的完全腐熟。

[0112] 4.2.2 YZC3对堆肥品质的影响

[0113] 腐殖质是重要的有机碳库,其中含有大量的官能团(如羧基、酚羟基等),能吸附和固定重金属离子,因此,腐殖质的生成对于堆肥品质有重要的影响。木质素的降解对腐殖质的形成有重要作用。木质素在微生物的作用下,其侧链被氧化成木质素类衍生物,构成了腐殖质的核心骨架。表2可见YZC3堆肥产品腐殖酸含量显著高于空白。YZC3有利于加速木质素降解,形成腐殖酸。

[0114] 全效养分,速效养分,是评价肥料的重要指标,养分含量越高,堆肥品质越好。YZC3对堆肥中TN含量有显著影响,有助于减少堆肥过程中N的损失。

[0115] 表2菌剂堆肥养分指标

	TN (mg/g)	TP (mg/g)	TK (mg/g)	腐殖酸 (mg/g)
CK	1.00±0.10 a	1.15±0.04 a	3.83±0.34 a	5.22±0.64 a
YZC3	1.23±0.07 b	1.21±0.06 a	3.75±0.08 a	6.76±0.11 b

[0117] 4.3菌种鉴定结果

[0118] YZC3在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上生长较快,25℃黑暗条件下培养7天,菌落直径40~43mm,絮状,白色,中部略带浅黄色;菌落背面浅黄色,色素不渗入培养基。分生孢子梗高大,长200μm,宽3.0~5.0μm,帚状或轮状分枝,产孢细胞烧瓶形(ITS rDNA帚状分枝)或披针形(轮状分枝),9.0~38.5×1.5~2.5μm,顶端宽不足1μm;分生孢子椭圆形、肾形,无色,壁光滑,3.3~6.7×2.0~3.2μm,聚集成团,菌株的显微形态详见图7。

[0119] 真菌18S rRNA片段测序结果如SEQ ID NO.3所示,通过比对YZC3菌株与红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)同源性最高,达到100%,同源比对进化树如图8所示。

SEQUENCE LISTING

<110> 北京农学院

<120> 一种红粉粘帚霉(*Clonostachys rosea*)菌株YZC3及其应用

<130> P190289/BNX

<160> 3

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Fungus

<220>

<221> misc_feature

<222> (2) .. (2)

<223> n=I

<220>

<221> misc_feature

<222> (17) .. (17)

<223> n=I

<400> 1

anccattcaa tcggtant 18

<210> 2

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> fungus

<400> 2

gtagtcatat gcttgtctc 19

<210> 3

<211> 524

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> fungus

<400> 3

accttgaag ttgggggttt aacggcaggg gctcgtcgtc ctccgatgcg gaatatcact 60

acttcgcaga ggaggccacg acgggtccgc cactagattt aggggccggc cgtccctcgc 120
gggctttggc cgatcccaa caccagccc tagggcatg agggttgaaa tgacgctcag 180
acaggcatgc ccgccagaat actggcgggc gcaatgtgc ttcaaagatt cgatgattca 240
ctgaattctg caattcacat tacttatcgc atttcgctgc gttcttcacg gatgccagaa 300
ccaagagatc cgttgttgaa agtttttatt tatttgtaa aactactcag aagattcca 360
aataaaacaa gaattaagtt tcctaggcgg gcgcctgac cggggcacac gaggcgccc 420
gggcaatccc gccgaagcaa cagtaggtat gttcacatgg gtttgggagt tgtaaactcg 480
gtaatgatcc ctccgctggt tcaccaacgg agaccttggt acga 524

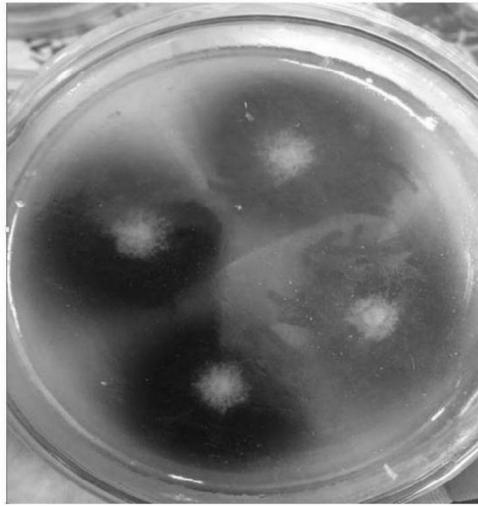


图1

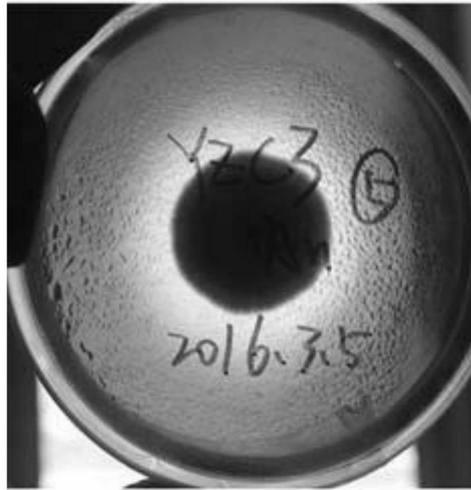


图2



图3



图4

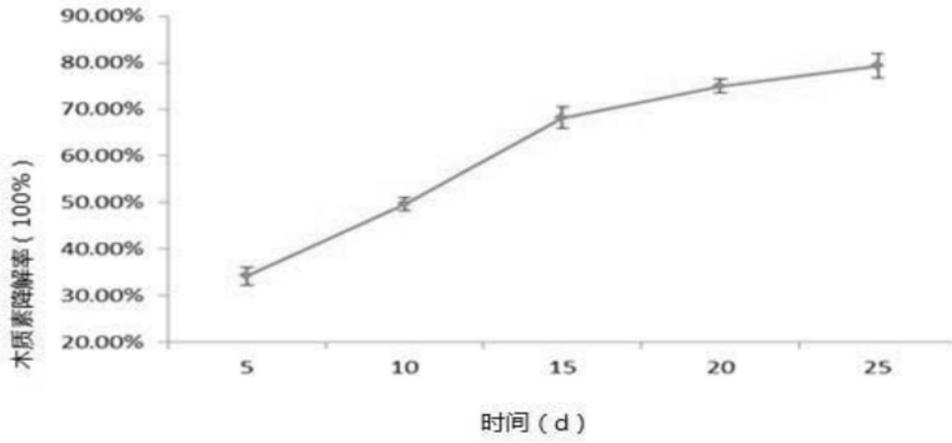


图5

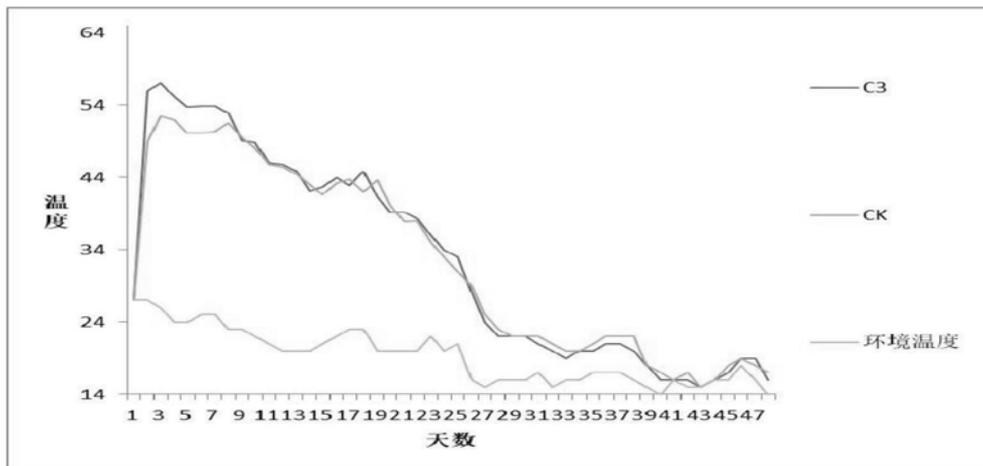


图6

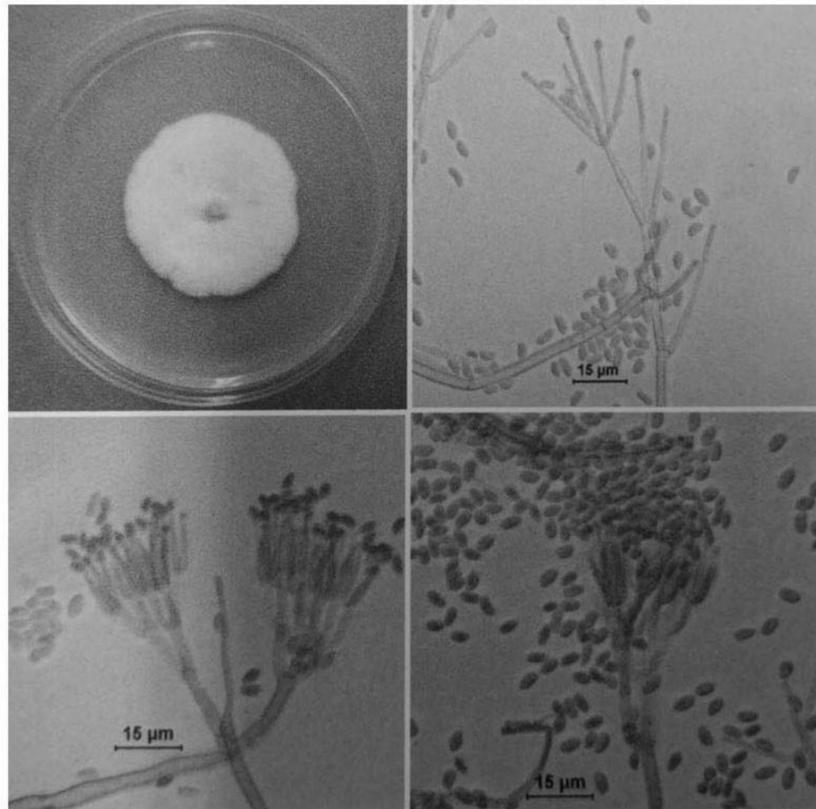


图7

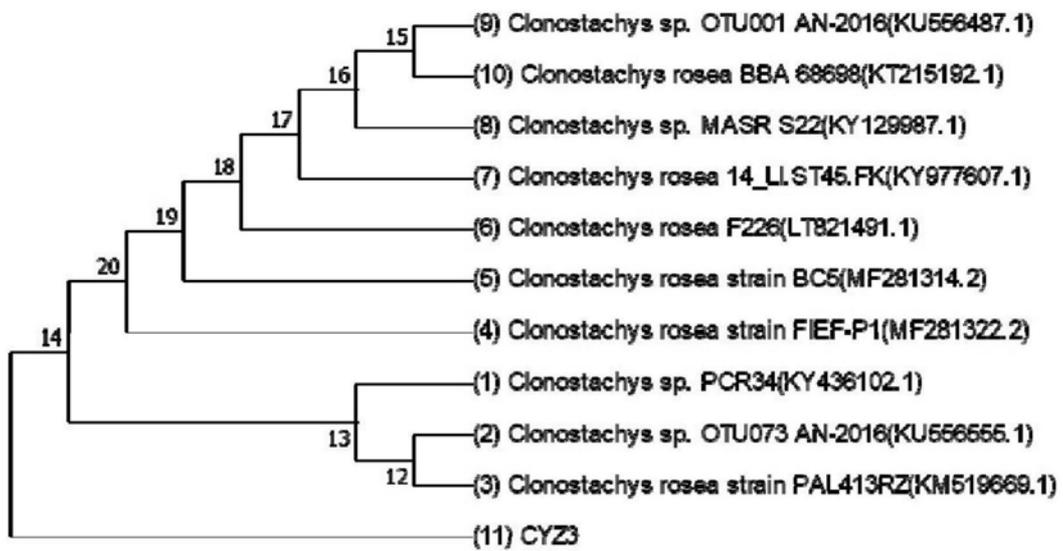


图8