



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114854600 A

(43) 申请公布日 2022. 08. 05

(21) 申请号 202210281596.1

C09K 17/14 (2006.01)

(22) 申请日 2022.03.21

C12R 1/80 (2006.01)

(83) 生物保藏信息

CGMCC No. 23827 2021.11.30

(71) 申请人 中国科学院南京土壤研究所

地址 210008 江苏省南京市玄武区北京东路71号

(72) 发明人 陈林 张佳宝 李含放 赵炳梓

(74) 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限公司 32200

专利代理师 唐循文

(51) Int. Cl.

C12N 1/14 (2006.01)

A01N 63/36 (2020.01)

A01P 21/00 (2006.01)

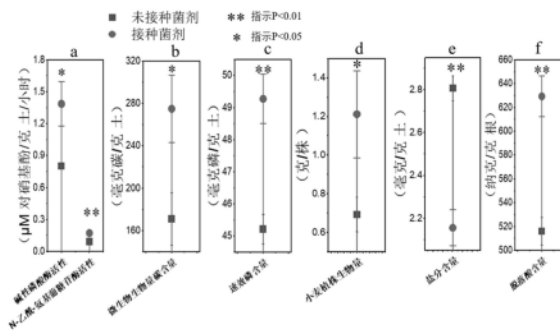
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

草酸青霉及其应用

(57) 摘要

草酸青霉及其应用,该菌株已在国家知识产权局指定的保藏单位保藏,保藏日期为2021年11月30号,保藏单位名称: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.23827。该株草酸青霉可以在土壤中稳定繁殖,使土壤氮磷养分周转相关的酶活性分别提高了86.77%和72.92%,作物根系脱落酸的含量提高了21.95%,促进土壤养分转化、作物耐盐及生长。该株草酸青霉来源于盐渍土农田土壤中,易于适应环境,具有绿色环保安全性。该株草酸青霉菌剂培养制作过程简单,成本低廉,有利于推广。



1. 草酸青霉 (*Penicillium oxalicum* HSJ002), 该菌株已在国家知识产权局指定的保藏单位保藏, 保藏日期为2021年11月30号, 保藏单位名称: 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. 23827。

2. 权利要求1所述草酸青霉的培养方法, 其特征在于, 步骤为: 挑取草酸青霉菌丝接种至PD液体培养基中, 置于恒温摇床27 °C、220 rpm培养5 ~ 7天出现菌丝球; 无菌条件下过滤, 取5 g菌丝球加入50 g麦麸-豆饼粉-面粉培养基中, 立即摇匀; 置于27 °C静置培养; 待到菌丝把麦麸-豆饼粉-面粉培养基凝固成块后使得菌饼两面接触空气继续培养; 之后置于27 °C培养箱, 直到菌丝完全覆盖麦麸-豆饼粉-面粉培养基后, 捣散制得。

3. 根据权利要求2所述草酸青霉的培养方法, 其特征在于, 所述PD液体培养基组成为: 去皮马铃薯200 g、葡萄糖20 g、水1000 mL; 所述麸皮-豆饼粉-面粉培养基组成为: 麦麸15 g、豆饼粉20 g、面粉15 g、水50 mL, 水先加入豆饼粉湿润30 min后, 再加入麦麸、面粉拌匀, 121 °C灭菌20 min后摇匀制得。

4. 权利要求1所述草酸青霉在促进作物生长中的作用。

5. 权利要求1所述草酸青霉在提高土壤磷酸酶和N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶活性中的应用。

6. 权利要求1所述草酸青霉在植物根系合成脱落酸中的应用。

7. 权利要求1所述草酸青霉在增加土壤磷素转化中的应用。

8. 根据权利要求7所述应用, 其特征在于, 增加土壤磷素转化的无机磷培养基的组成为: 葡萄糖10.0 g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1 g、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g、KCl 0.2 g、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5.0 g。

草酸青霉及其应用

[0001]

技术领域

[0002] 本发明属于微生物领域,具体涉及一株由盐渍土壤中筛选得到的功能性草酸青霉及其应用。

背景技术

[0003] 土壤磷素是影响作物产量的一个重要因素,据统计,我国大约有74%的耕地土壤缺磷,在相当多的农田土壤中有效磷的利用不足成为了限制作物高产的主要因素,即使在一些有效磷含量高的土壤中,磷肥的施用也必不可少(张智猛,等.施磷对土壤有效磷、吸磷特性及小麦产量的影响[J].河北农业技术师范学院学报,1999,13(1):1115.胡莹莹,张民,宋付朋.控释复肥中磷素在马铃薯上的效应研究[J].植物营养与肥料学报,2003,(02):174-177.).长期以来,施用磷肥是提高粮食产量的重要举措。研究表明,磷在土壤中移动性较差,从而造成当季磷肥利用率仅为10%~25%(高珊,杨劲松,姚荣江,曹逸凡,朱海,孙运朋,王相平,谢文萍.调控措施对滨海盐渍土磷素形态及作物磷素吸收的影响[J].土壤,2020,52(04):691-698.),大部分的磷都与土壤中的 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{2+} 等离子相结合转化为难溶性磷而不利于植物的吸收。盐渍土壤中的磷存在着有效性低的问题,由于土壤盐度的影响,施入土壤的磷以有效性低的难溶性磷酸盐形态存在。而土壤中的溶磷微生物能够将土壤中难溶性磷转化为可被植物吸收利用的可溶性磷,提高磷肥利用率,使作物的吸磷量增加,从而有利于了作物产量的提高。提高磷的利用率对于改善土壤结构,保护生态环境具有重要意义。

[0004] 研究表明,植物根际土壤存在着大量具有解磷功能的微生物(SON HJ,PARK GT,CHA M S,et al.Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt-and pH tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere[J].Bioresource Technology,2006,97:204-210.),能够将土壤中难以吸收利用的无效态磷转化为可吸收利用的有效态磷。目前已经报道的解磷真菌主要有曲霉菌、被孢霉菌、木霉菌、根霉菌等。

[0005] 目前对于盐渍土壤中有关草酸青霉在土壤磷素活化释放及作物耐盐促生方面的研究,鲜有报道。

[0006]

发明内容

[0007] 解决的技术问题:本发明提供一株草酸青霉及其应用。该草酸青霉来自于中国科学院遗传与发育生物学研究所山东基地的典型盐渍土壤中,生长速度快,成本低,易培养。该菌株在促进土壤养分活化和作物生长中的作用显著。同时,该菌株能促进作物分泌脱落酸对作物生长抗逆产生直接的影响。

[0008] 技术方案:草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002),该菌株已在国家知识产权局指定的保藏单位保藏,保藏日期为2021年11月30号,保藏单位名称: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. 23827。

[0009] 草酸青霉的培养方法,步骤为:挑取草酸青霉菌丝接种至PD液体培养基中,置于恒温摇床27 °C、220 rpm培养5 ~ 7天出现菌丝球;无菌条件下过滤,取5 g菌丝球加入50 g麦麸-豆饼粉-面粉培养基中,立即摇匀;置于27 °C静置培养;待到菌丝把麦麸-豆饼粉-面粉培养基凝固成块后使得菌饼两面接触空气继续培养;之后置于27 °C培养箱,直到菌丝完全覆盖麦麸-豆饼粉-面粉培养基后,捣散制得。

[0010] 上述PD液体培养基组成为:去皮马铃薯200 g、葡萄糖20 g、水1000 mL;所述麸皮-豆饼粉-面粉培养基组成为:麦麸15 g、豆饼粉20 g、面粉15 g、水50 mL,水先加入豆饼粉湿润30 min后,再加入麦麸、面粉拌匀,121 °C灭菌20 min后摇匀制得。

[0011] 上述草酸青霉在促进作物生长中的作用。

[0012] 上述草酸青霉在提高土壤磷酸酶和N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶活性中的应用。

[0013] 上述草酸青霉在植物根系合成脱落酸中的应用。

[0014] 上述草酸青霉在增加土壤磷素转化中的应用。

[0015] 增加土壤磷素转化的无机磷培养基的组成为:葡萄糖10.0 g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1 g、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g、KCl 0.2 g、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5.0 g

有益效果:(1)该株草酸青霉能够显著提高土壤碱性磷酸酶活性和N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶活性(图1:a),并提高了速效磷的含量(图1:c),具有一定的溶磷能力(图2),说明该菌株在土壤氮磷转化中发挥显著作用。(2)作物根系脱落酸的含量提高了21.95%(图1:f),说明该菌株提高了作物耐受盐胁迫的能力,同时植株生物量也提高了70.74%(图1:d),在一定程度上也使含盐量下降了30.17%(图1:e),在一定程度上缓解了植株盐毒害。(3)该菌株作为根际微生物,接入土壤使根际土壤微生物生物量碳提高了60.73%(图1:b),在一定程度上促进土壤养分有效化,通过根土交流改变作物根际土区域微生物群落结构进而调节作物生长(图3)。

[0016]

附图说明

[0017] 图1为接种草酸青霉对土壤碱性磷酸酶活性、N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶活性、土壤微生物生物量碳含量、速效磷含量、盐分含量、小麦植株生物量及根系脱落酸含量的影响。其中a为草酸青霉与碱性磷酸酶活性和N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶活性关系,b为草酸青霉与微生物生物量碳含量关系,c为草酸青霉与速效磷含量的关系,d为草酸青霉与小麦植株生物量关系,e为草酸青霉与土壤盐分含量关系,f为草酸青霉与作物根系脱落酸含量关系。

[0018] 图2为草酸青霉在无机磷培养基上的生长状况及其溶磷量情况。

[0019] 图3为接种草酸青霉对土壤根际真菌群落组成的影响。

具体实施方式

[0020] 以下实施例只为说明本发明的技术构思及特点,其目的在于让熟悉此项技术的人是能够了解本发明的内容并据以实施,并不能以此限制本发明的保护范围。凡根据本发明

精神实质所做的等效变换或修饰,都应涵盖在本发明的保护范围之内。该株草酸青霉可以在土壤中稳定繁殖,使土壤氮磷养分周转相关的酶活性分别提高了86.77%和72.92%,作物根系脱落酸的含量提高了21.95%,促进土壤养分转化、作物耐盐及生长。该株草酸青霉在增加土壤磷素转化的无机磷培养基的组成为:葡萄糖10.0 g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1 g、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g、 KCl 0.2 g、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5.0 g。该株草酸青霉来源于盐渍土农田土壤中,易于适应环境,具有绿色环保安全性。该株草酸青霉菌剂培养制作过程简单,成本低廉,有利于推广。

[0021] 实施例1

从中国科学院遗传与发育生物学研究所山东基地典型盐渍土壤中分离培养出一株草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002)。该菌株在显微镜下显示直立菌丝的顶端有孢子囊呈扫帚状,其上生有成串的孢子,孢子可以飘落到各处,在适宜的环境条件下,都能发育成一个新个体,在无机磷培养基上会产生明显的解磷透明圈。该菌株已在国家知识产权局指定的保藏单位保藏,保藏日期为2021年11月30号,保藏单位名称: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,保藏编号:CGMCC No. 23827。该表层土壤养分指标为:pH 8.59、电导率4.66 ds/m、土壤有机碳含量6.53 g/kg、土壤全氮含量0.53 g/kg、土壤全磷含量0.71 g/kg。

[0022] 实施步骤

步骤1:将生长良好的草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002)菌种接种至PD液体培养基中,27 °C、220 rpm摇床培养5 ~ 7天。

[0023] 步骤2:将液体培养的草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002)在无菌条件下过滤,过滤后的菌丝体用无菌去离子水冲洗干净。

[0024] 步骤3:将3 g洁净的菌丝体溶于50 mL无菌去离子水中,菌液加入1.5 kg土壤中,混匀后装盆。

[0025] 步骤4:充分浇水后进行作物种植。

[0026] 对比例1

实施步骤

步骤1:准确量取不含菌丝体的50 mL无菌去离子水,加入1.5 kg土壤后装盆。

[0027] 步骤2:充分浇水后进行作物种植。

[0028] 实施例2

实施步骤

步骤1:将生长良好的草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002)菌种接种至PD液体培养基中,27 °C、220 rpm摇床培养5 ~ 7天,直到液体培养基浑浊并长满大量菌丝球。

[0029] 步骤2:将液体培养的草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002)在无菌条件下过滤,过滤后的菌丝体用无菌去离子水冲洗干净。

[0030] 步骤3:将干净的菌丝接种到灭过菌麦麸-豆饼粉-面粉培养基中,27 °C静置黑暗培养,直到菌丝完全覆盖培养基。

[0031] 步骤4:将不同三角瓶中菌丝的麦麸-豆饼粉-面粉培养基捣散取出,混匀后即成为菌剂。

[0032] 步骤5:准确称取3 g菌剂,加入1.5 kg土壤中,充分混匀后装盆。

[0033] 步骤6:充分浇水后进行作物种植。

[0034] 对比例2

实施步骤

步骤1:准确称取灭菌处理不加菌丝的麦麸-豆粉饼-面粉培养基3 g,加入1.5 kg 土壤中,充分混匀后装盆。

[0035] 步骤2:充分浇水后进行作物种植。

[0036] 供试土壤为黄河三角洲东营农田盐渍土,土壤养分指标为:土壤含盐量3.50 g/kg、土壤有机碳11.46 g/kg、土壤全氮1.15 g/kg、土壤全磷1.07 g/kg、土壤速效磷32.07 mg/kg。种植作物为小麦(品种为济南177),于三叶期定苗,每盆留三株。小麦于温室环境中进行培养,培养期间含水量保持为60%。期间按需进行浇水除草。培养至开花期进行采样,测定土壤酶活性、小麦生物量以及小麦根系激素含量等。

[0037] 测定结果如图1所示,接种草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002)处理小麦的生物量提高了70.74%,小麦根系脱落酸的含量提高了21.95%,碱性磷酸酶活性提高了72.92%、N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶活性提高了86.77%。因此,接种草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002)显著提高盐渍土碱性磷酸酶和N-乙酰-氨基葡萄糖苷酶活性、速效磷含量以及植株生物量,促进盐渍土氮磷养分活化、改善作物对氮磷养分的吸收利用,进而促进作物生长。该株草酸青霉(*Penicillium oxalicum* HSJ002)刺激了作物脱落酸的分泌产生,从而在一定程度上提高作物的耐盐抗逆性。

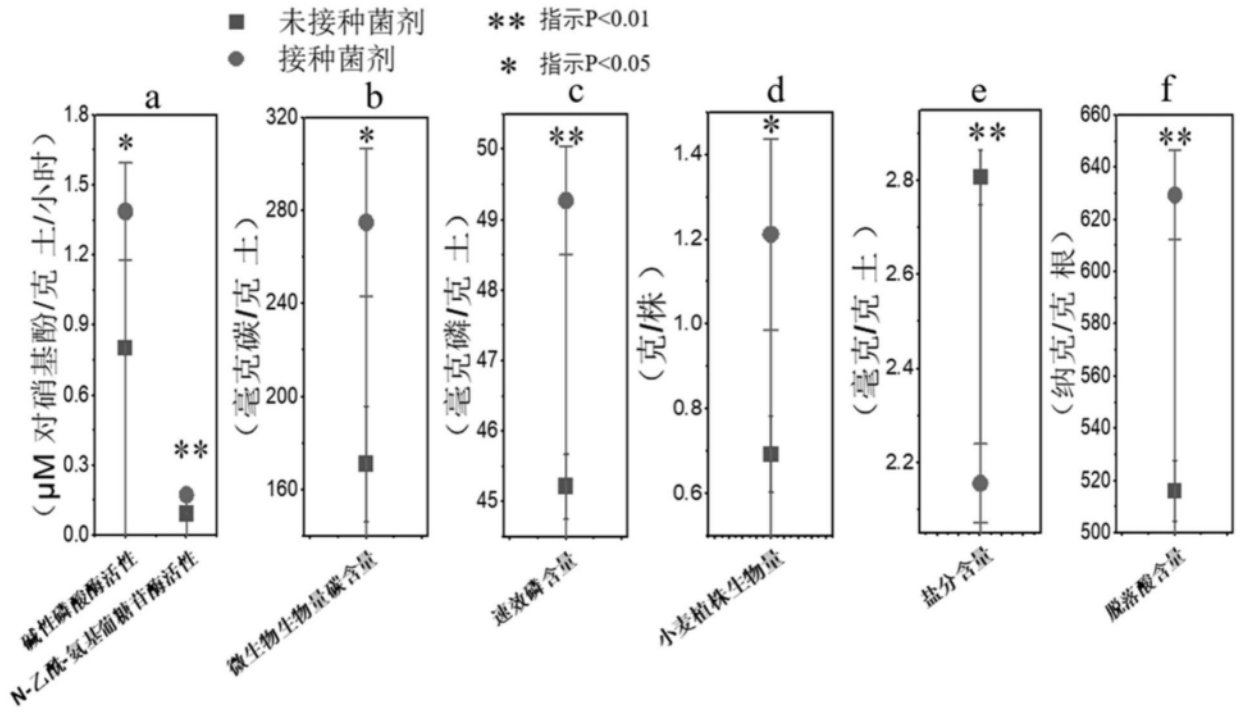


图1

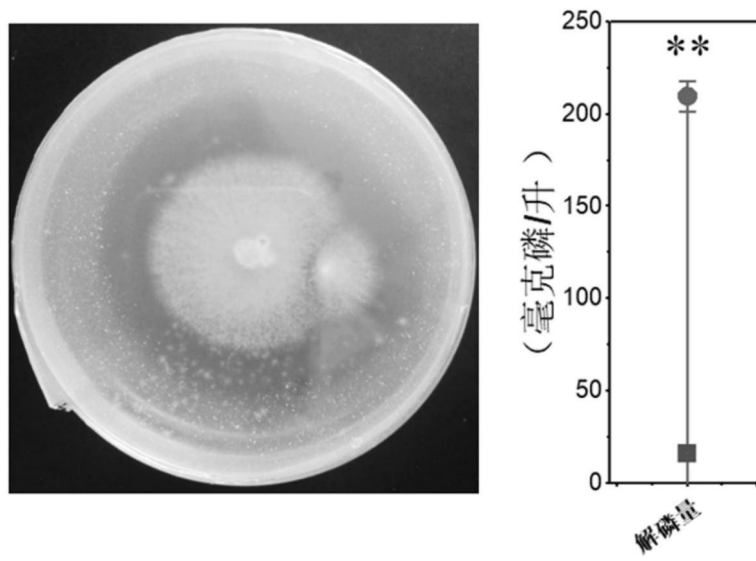


图2

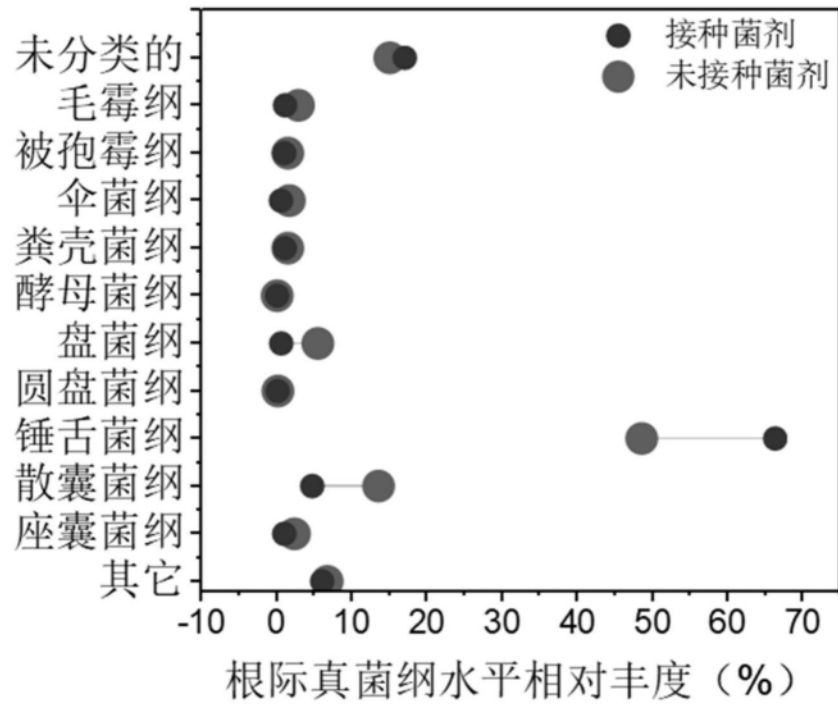


图3