



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111424068 A

(43)申请公布日 2020.07.17

(21)申请号 202010286166.X

C12R 1/645(2006.01)

(22)申请日 2020.04.13

(71)申请人 中国农业科学院果树研究所

地址 125000 辽宁省葫芦岛市兴城市兴海南街98号

(72)发明人 周宗山 鄢海峰 冀志蕊 张俊祥
王娜 乔壮

(74)专利代理机构 北京君泊知识产权代理有限公司 11496

代理人 李丹

(51)Int.Cl.

C12Q 1/18(2006.01)

C12N 3/00(2006.01)

C12N 1/14(2006.01)

A01G 7/06(2006.01)

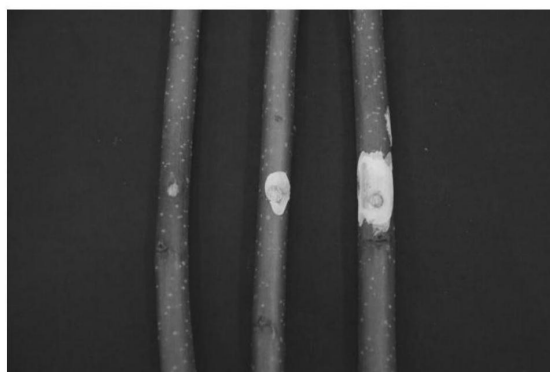
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法

(57)摘要

本发明涉及植物保护技术领域,具体涉及一种基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法,在室内采用离体苹果枝条,模拟田间苹果腐烂病发病过程,以接近田间实际防效鉴定的方式对防控苹果腐烂病的药剂进行抑菌活性测定和有效使用浓度确定。本发明提供的苹果腐烂病药剂抑菌活性鉴定方法,在操作上快速、客观、简单易行,成本低廉,既能用于苹果腐烂病有效药剂的快速和大通量筛选,又能对药剂的作用方式进行鉴定和评价。



1. 基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法, 其特征在于, 所述的农药包括保护性杀菌剂和治疗性杀菌剂;

基于保护性杀菌剂, 具体步骤如下:

1) 苹果腐烂病病原菌孢子的获取

田间采集苹果枝条, 截取长度为 8 ± 0.5 cm的枝段, 取3~5枝装入三角瓶中并加入3~4ml蒸馏水, 湿热灭菌备用, 将苹果腐烂病菌接种于灭菌后的枝条上, 25°C 光照培养15~30d, 待产孢备用, 待离体苹果枝条上形成子实体并涌出黄色分生孢子角时, 用无菌接种针挑取分生孢子, 并用无菌水制成接种用孢子悬浮液;

2) 枝条处理

田间采集健康且长势一致的苹果枝条, 截取长度为 25 ± 2 cm, 横截面直径为1~2cm的枝段, 用自来水和无菌水交替冲洗枝条, 去除枝条表面污渍; 用脱脂棉蘸取75%酒精对枝条表面进行消毒并蜡封两端; 处理好的枝条置于超净工作台晾干; 用打孔器均匀间隔打孔4~6个/枝条, 并除去孔内外表皮, 留少量韧皮部; 每孔滴加浓氨水对枝条进行烫伤处理, 待浓氨水晾干后备用;

3) 保护性杀菌剂对发病枝条的作用

将保护性杀菌剂用灭过菌的刷子涂抹在步骤2) 浓氨水处理过的打孔部位, 待晾干后, 每孔处滴加孢子液, 在打孔处涂抹无菌水然后滴加孢子液作为对照组, 保湿培养;

4) 统计发病数并计算发病率

枝条保湿培养7天后, 测量并统计枝条发病数, 计算出接种孔发病率, 进一步计算出保护性杀菌剂的抑菌活性, 以评价保护性杀菌剂对发病枝条的保护效果;

基于治疗性杀菌剂, 具体步骤如下:

1) 苹果腐烂病病原菌的培养

采用PDA培养基平板培养苹果腐烂病病原菌, 25°C 暗培养5d得到苹果树腐烂病菌菌饼待用;

2) 枝条接菌处理

田间采集健康且长势一致的苹果枝条, 截取长度为 25 ± 2 cm, 横截面直径为1~2cm的枝段, 用自来水和无菌水交替冲洗枝条, 去除枝条表面污渍; 用脱脂棉蘸取75%酒精对枝条表面进行消毒并蜡封两端; 处理好的枝条置于超净工作台晾干; 用打孔器均匀间隔打孔4~6个/枝条, 并除去孔内外表皮, 留少量韧皮部; 每孔滴加浓氨水对枝条进行烫伤处理, 待浓氨水晾干后备用;

3) 治疗性杀菌剂对发病枝条的作用

在枝条打孔部位接种步骤1) 所述的培养5d的苹果树腐烂病菌菌饼, 将枝段放入垫有湿纱布的搪瓷盘中; 用保鲜膜覆盖保湿, 置于 25°C 的恒温箱中保湿培养24h, 使病原菌与寄主之间建立寄生关系; 去掉菌饼, 在打孔处涂抹治疗性杀菌剂, 以只在打孔处涂抹无菌水作为对照组, 25°C 保湿培养7d, 通过测量病斑扩展长度, 计算治疗性杀菌剂的抑菌活性, 以评价治疗性杀菌剂对发病枝条的治疗效果;

4) 发病情况统计

测量并统计接种孔发病数以及各发病孔病斑长度, 根据记录的枝条病斑长度, 按公式: 采用“十字交叉法”测量病疤长度和短径, 并计算病疤面积;

病疤面积 = $1/4 \times \pi \times \text{长径} \times \text{短径}$

病斑扩展抑制率 = (对照病疤面积 - 处理病疤面积) / (对照病疤面积 - 菌饼面积) × 100%，所述的对照病疤面积是以无菌水处理作为对照参考；

数据采用Excel软件计算EC50和标准误差，并采用SPSS 19.0软件和Duncan氏新复极差法进行方差分析 ($P < 0.05$)。

2. 根据权利要求1所述的基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法，其特征在于，基于保护性杀菌剂，步骤1)所述的无菌水制成接种孢子悬浮液的浓度为 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 。

3. 根据权利要求1所述的基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法，其特征在于，基于保护性杀菌剂，步骤2)所述的打孔器为4mm打孔器。

4. 根据权利要求1所述的基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法，其特征在于，基于保护性杀菌剂，步骤2)所述的浓氨水加入量为每孔5 μL 。

5. 根据权利要求1所述的基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法，其特征在于，基于保护性杀菌剂，步骤3)所述的孢子液滴加量为每孔10 μL 。

6. 根据权利要求1所述的基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法，其特征在于，所述的保护性杀菌剂包括甲基硫菌灵、菌毒清、代森铵；所述的治疗性杀菌剂包括甲基硫菌灵和丙环唑。

7. 根据权利要求1所述的基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法，其特征在于，所述的苹果腐烂病菌为中国农业科学院果树研究所果树病害组从苹果资源圃内分离保存的单孢菌株，黑腐皮壳菌 (*Valsa mali*)。

基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法

技术领域

[0001] 本发明涉及植物保护技术领域,具体涉及一种基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法。

背景技术

[0002] 苹果腐烂病是一种发生范围广、危害程度重的果树病害,进入盛果期的果树和山坡薄地长势弱的果树最容易发病。苹果树感染后形成腐烂病斑,如不及时防治,则会很快蔓延,影响苹果树的正常生长。目前对苹果腐烂病的抑菌活性测定方法多数为田间试验,田间试验的鉴定周期需要1年之久,因此,人们为了缩短鉴定周期,提出了室内PDA培养基菌丝生长鉴定法,而这种方法与真实的田间试验的试验结果相差甚远,并无太大参考价值。

发明内容

[0003] 本发明为了克服上述技术问题,提供了一种基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法,在室内模拟苹果腐烂病发病过程,克服了传统的室内PDA培养基菌丝生长鉴定法与田间试验结论相差较远的缺陷,鉴定结果更加符合田间实际鉴定效果,且能够再7~10天内获得试验结果,与田间需要1年鉴定周期相比,更加适用于进行新药剂的批量化和快速鉴定。

[0004] 解决上述技术问题的技术方案如下:

[0005] 基于离体枝条的农药对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法,所述的农药包括保护性杀菌剂和治疗性杀菌剂;

[0006] 基于保护性杀菌剂,具体步骤如下:

[0007] 1) 苹果腐烂病病原菌孢子的获取

[0008] 田间采集苹果枝条,截取长度为 8 ± 0.5 cm的枝段,取3~5枝装入三角瓶中并加入3~4ml蒸馏水,湿热灭菌两次备用,将苹果腐烂病病菌接种于灭菌后的枝条上,25℃光照培养15~30d,待产孢备用,待离体苹果枝条上形成子实体并涌出黄色分生孢子角时,用无菌接种针挑取分生孢子,并用无菌水制成接种孢子悬浮液;

[0009] 2) 枝条处理

[0010] 田间采集健康且长势一致的苹果枝条,截取长度为 25 ± 2 cm,横截面直径为1~2cm的枝段,用自来水和无菌水交替冲洗枝条,去除枝条表面污渍;用脱脂棉蘸取75%酒精对枝条表面进行消毒并蜡封两端;处理好的枝条置于超净工作台晾干;用打孔器均匀间隔打孔4~6个/枝条,并除去孔内外表皮,留少量韧皮部;每孔滴加浓氨水对枝条进行烫伤处理,待浓氨水晾干后备用;

[0011] 3) 保护性杀菌剂对发病枝条的作用

[0012] 将保护性杀菌剂用灭过菌的刷子涂抹在步骤2)浓氨水处理过的打孔部位,待晾干后,每孔处滴加孢子液,先涂抹无菌水后接种病原菌,保湿培养;

[0013] 4) 统计发病数并计算发病率

[0014] 枝条保湿培养7天后,测量并统计接菌孔发病数,计算出接菌孔发病率,进一步计算出保护性杀菌剂的抑菌活性,以评价保护性杀菌剂对发病枝条的保护效果;

[0015] 基于治疗性杀菌剂,具体步骤如下:

[0016] 1) 苹果腐烂病病原菌的培养

[0017] 采用PDA培养基平板培养腐烂病病原菌,25℃暗培养5d得到苹果树腐烂病菌菌饼待用;

[0018] 2) 枝条接菌处理

[0019] 田间采集健康且长势一致的苹果枝条,截取长度为 25 ± 2 cm,横截面直径为1~2cm的枝段,用自来水和无菌水交替冲洗枝条,去除枝条表面污渍;用脱脂棉蘸取75%酒精对枝条表面进行消毒并蜡封两端;处理好的枝条置于超净工作台晾干;用打孔器均匀间隔打孔4~6个/枝条,并除去孔内外表皮,留少量韧皮部;每孔滴加浓氨水对枝条进行烫伤处理,待浓氨水晾干后备用;

[0020] 3) 治疗性杀菌剂对发病枝条的作用

[0021] 在枝条打孔部位接种步骤1)所述的培养5d的苹果树腐烂病菌菌饼,将枝段放入垫有湿纱布的搪瓷盘中;用保鲜膜覆盖保湿,置于25℃的恒温箱中保湿培养24h,使病原菌与寄主之间建立寄生关系;去掉菌饼,在打孔处涂抹治疗性杀菌剂,25℃保湿培养7d,通过测量病斑扩展长度,计算治疗性杀菌剂的抑菌活性,以评价治疗性杀菌剂对发病枝条的治疗效果;

[0022] 4) 发病情况统计

[0023] 测量并统计枝条发病数以及各发病孔病斑长度,根据记录的枝条病斑长度,按公式:

[0024] 采用“十字交叉法”测量病疤长度和短径,并计算病疤面积;

[0025] 病疤面积 = $1/4 \times \pi \times \text{长径} \times \text{短径}$

[0026] 病斑扩展抑制率 = $(\text{对照病疤面积} - \text{处理病疤面积}) / (\text{对照病疤面积} - \text{菌饼面积}) \times 100\%$,所述的对照病疤面积是以无菌水处理作为对照参考;

[0027] 数据采用Excel软件计算EC50和标准误差,并采用SPSS 19.0软件和Duncan氏新复极差法进行方差分析($P < 0.05$)。

[0028] 进一步地说,基于保护性杀菌剂,步骤1)所述的无菌水制成接种孢子悬浮液的浓度为 1×10^6 /ml。

[0029] 进一步地说,基于保护性杀菌剂,步骤2)所述的打孔器为4mm打孔器。

[0030] 进一步地说,基于保护性杀菌剂,步骤2)所述的浓氨水加入量为每孔5 μ L。

[0031] 进一步地说,基于保护性杀菌剂,步骤3)所述的孢子液滴加量为每孔10 μ L。

[0032] 进一步地说,所述的保护性杀菌剂包括甲基硫菌灵、菌毒清、代森铵;所述的治疗性杀菌剂包括甲基硫菌灵和丙环唑。

[0033] 优选地,所述的甲基硫菌灵为成都科利隆生化有限公司的3%甲基硫菌灵糊剂,所述的菌毒清为海利尔药业有限公司的6.5%菌毒清水剂,所述的代森铵为河北双吉化工有限公司的45%代森铵水剂,所述的丙环唑为山东省烟台博瑞特生物科技有限公司的45%丙环唑微乳剂。

[0034] 进一步地说,所述的苹果腐烂病病菌为中国农业科学院果树研究所果树病害组从

苹果资源圃内分离保存的单孢菌株,黑腐皮壳菌(*Valsa mali*)。

[0035] 本发明的有益效果是:

[0036] 本发明提供了一种基于离体苹果枝条的苹果腐烂病防控药剂抑菌活性鉴定和有效抑菌浓度筛选的方法。在室内采用离体苹果枝条,模拟田间苹果腐烂病发病过程,以接近田间实际防效鉴定的方式,对防控苹果腐烂病的药剂进行抑菌活性测定和有效使用浓度确定。本发明提供的苹果腐烂病药剂抑菌活性鉴定方法,在操作上快速、客观、简单易行,成本低廉,既能用于苹果腐烂病有效药剂的快速和大通量筛选,又能对药剂的作用方式进行鉴定和评价。

附图说明

[0037] 下面结合附图和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0038] 图1为苹果腐烂病菌在苹果枝条培养基中形成子实体并涌出黄色分生孢子角的示意图;

[0039] 图2为苹果腐烂病菌孢子在显微镜下放大 10×40 倍的照片;

[0040] 图3为离体枝条接种苹果树腐烂病菌后,发病枝条产生病疤的示意图;

[0041] 图4为本发明实施例1中离体枝条涂抹保护性杀菌剂后接种苹果腐烂病菌的示意图;

[0042] 图5为离体枝条放入搪瓷盘中,用保鲜膜覆盖,恒温保湿培养图。

具体实施方式

[0043] 实施例1:

[0044] 基于离体枝条的保护性杀菌剂对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法,本实施例基于甲基硫菌灵、菌毒清、代森铵对苹果腐烂病室内抑菌活性测定,甲基硫菌灵为成都科利隆生化有限公司的3%甲基硫菌灵糊剂,菌毒清为海利尔药业有限公司的6.5%菌毒清水剂,代森铵为河北双吉化工有限公司的45%代森铵水剂。病菌材料:苹果腐烂病菌,即黑腐皮壳菌(*Valsa mali*)由中国农业科学院果树研究所果树病害组从苹果资源圃内分离保存的单孢菌株。具体步骤如下:

[0045] 1) 苹果腐烂病病原菌孢子的获取

[0046] 田间采集两年生苹果枝条,截取长度为 8 ± 0.5 cm的枝段,取5枝装入三角瓶中并加入4ml蒸馏水,封口后,经 121°C 湿热灭菌两次得苹果枝条培养基备用,将4mm苹果腐烂病菌饼接种于灭菌后的枝条培养基中, 25°C 光照培养15~30d,待病菌产孢备用,待离体苹果枝条上形成子实体并涌出黄色分生孢子角时(如图1所示),用无菌接种针挑取分生孢子,并用无菌水制成浓度为 $1\times 10^6/\text{ml}$ 的接种孢子悬浮液;苹果腐烂病菌孢子在显微镜下放大 10×40 倍的照片如图2所示。离体枝条接种苹果树腐烂病菌后,发病枝条产生病疤如图3所示。

[0047] 2) 枝条处理

[0048] 田间采集富士品种健康且长势一致的两年生苹果树枝条,截取长度为 25 ± 2 cm,横截面直径为1~2cm的枝段,用自来水和无菌水交替冲洗枝条,去除枝条表面污渍;用脱脂棉蘸取75%酒精对枝条表面进行消毒,处理好的枝条置于超净工作台晾干,用石蜡封住枝条两端待用;用4mm消毒后的打孔器均匀间隔打孔,每枝段打4个孔,每个孔间隔5~6mm,并除

去孔内外表皮,留少量韧皮部;每孔滴加5 μ L浓氨水对枝条进行烫伤处理,待浓氨水晾干后备用;

[0049] 3) 保护性杀菌剂对发病枝条的作用

[0050] 分别将甲基硫菌灵30000mg/L、菌毒清1000mg/L、代森铵4000mg/L用灭过菌的刷子涂抹在步骤2)浓氨水处理过的打孔部位,每种保护性杀菌剂涂抹10根枝条,以涂抹无菌水为对照,每个孔所涂抹药剂均匀、剂量统一(如图4所示),待晾干后,在打孔部位处接现配的苹果腐烂病菌分生孢子悬浮液20 μ L,后将枝段放入垫有湿纱布的搪瓷盘中;用保鲜膜覆盖保湿,置于25 $^{\circ}$ C的恒温箱中保湿培养(如图5所示);

[0051] 将试供检测的保护剂用灭过菌的刷子涂抹在处理过的小孔处,待晾干后,小孔处滴加10 μ L孢子液,保湿培养7~10d。

[0052] 4) 统计发病数并计算发病率

[0053] 枝条保湿培养7天后,待对照出现明显病斑后,测量并统计枝条接菌孔发病数,按照公式:发病率(%)=接菌孔发病数/接种总数 \times 100%,计算出接菌孔发病率,以评价保护性杀菌剂对发病枝条的保护效果。

[0054] 5) 试验结果

[0055] 按照步骤4)计算的发病率结果如下表1所示,由表1可知,甲基硫菌灵的防效最好,处理未发病,涂抹菌毒清、代森铵后的发病率分别为26.67%、43.33%。

[0056] 表1不同保护性杀菌剂对接种苹果树腐烂病菌的离体枝条的保护作用

杀菌剂	浓度(mg/L)	发病率(%)
甲基硫菌灵	3000	0.00
菌毒清	1000	26.67
代森铵	4000	43.33
无菌水作对照	—	100.00

[0057] 实施例2:

[0058] 基于离体枝条的治疗性杀菌剂对苹果腐烂病室内抑菌活性测定方法,本实施例基于甲基硫菌灵、丙环唑对苹果腐烂病室内抑菌活性测定,甲基硫菌灵为成都科利隆生化有限公司的3%甲基硫菌灵糊剂,丙环唑为山东省烟台博瑞特生物科技有限公司的45%丙环唑微乳剂,具体步骤如下:

[0059] 1) 苹果腐烂病病原菌的培养

[0060] PDA培养基的配方:马铃薯200g,葡萄糖20g,琼脂15~20g,蒸馏水1000ml,自然pH。配置方法是称取200g去皮马铃薯,切成小块,放入烧杯中,加水800ml,煮沸20min,用纱布过滤去马铃薯及其残渣,收集滤液;向滤液中分别加入琼脂和蔗糖,加热融化,用蒸馏水定容至1000ml;将溶液分装到三角瓶中,密封后,经121 $^{\circ}$ C条件下灭菌2min,冷却后贮存备用。

[0061] 选用黑腐皮壳菌(*Valsa mali*)作为腐烂病菌株,采用PDA培养基平板培养腐烂病病原菌,用灭菌过的接菌环在超净工作台中挑取苹果腐烂病菌接种在PDA平板的中央,25 $^{\circ}$ C暗培养5d得到苹果树腐烂病菌菌饼待用;黑腐皮壳菌(*Valsa mali*)为中国农业科学院果树研究所果树病害组从苹果资源圃内分离保存的单孢菌株;

[0062] 2) 枝条接菌处理

[0063] 田间采集富士品种健康且长势一致的两年生苹果枝条,截取长度为25 \pm 2cm,横截

面直径为1~2cm的枝段,用自来水和无菌水交替冲洗枝条,去除枝条表面污渍;用脱脂棉蘸取75%酒精对枝条表面进行消毒,处理好的枝条置于超净工作台晾干,用石蜡封住枝条两端待用;用4mm消毒后的打孔器均匀间隔打孔,每枝段打5个孔,每个孔间隔5~6mm,并除去孔内外表皮,留少量韧皮部;每孔滴加5 μ L浓氨水对枝条进行烫伤处理,待浓氨水晾干后备用;

[0065] 3) 治疗性杀菌剂对发病枝条的作用

[0066] 用灭过菌的4mm打孔器在已培养5d的PDA培养平板上打孔,得到的菌饼贴在枝条的打孔部位,再用封口膜将其和接种枝条同时包扎,使菌饼固定在枝条打孔处,将枝段放入垫有湿纱布的搪瓷盘中;用保鲜膜覆盖保湿,置于25 $^{\circ}$ C的恒温箱中保湿培养24h,使病原菌与寄主之间建立寄生关系;将打孔处的封口膜以及菌饼取下,把已配制好的不同浓度治疗性杀菌剂涂抹于伤口,其中甲基硫菌灵浓度为5000mg/L、3333mg/L、2500mg/L,丙环唑浓度为500mg/L、333mg/L、250mg/L,每个处理涂抹20个枝条,以涂抹无菌水为对照参考。保湿培养7天,通过测量病斑扩展长度,计算病斑扩展抑制率,以评价药剂对发病枝条的治疗效果;

[0067] 4) 发病情况统计

[0068] 测量并统计枝条发病数以及各发病孔病斑长度,根据记录的枝条病斑长度,按公式:

[0069] 采用“十字交叉法”测量病疤长度和短径,并计算病疤面积;

[0070] 病疤面积 = $1/4 \times \pi \times \text{长径} \times \text{短径}$

[0071] 病斑扩展抑制率 = $(\text{对照病疤面积} - \text{处理病疤面积}) / (\text{对照病疤面积} - \text{菌饼面积}) \times 100\%$,

[0072] 数据采用Excel软件计算EC50和标准误差,并采用SPSS 19.0软件和Duncan氏新复极差法进行方差分析($P < 0.05$)。

[0073] 5) 试验结果

[0074] 不同浓度治疗性杀菌剂对接种苹果树腐烂病菌的离体枝条的治疗作用,如下表2所示。由图2可知,两种杀菌剂均能有效地抑制病斑扩展,甲基硫菌灵5000mg/L、3333mg/L、2500mg/L在离体枝条上对苹果腐烂病斑的抑制率分别为72.42%、64.59%、28.07%,EC50为3199.51mg/L。丙环唑500mg/L、333mg/L、250mg/L在离体枝条上对苹果腐烂病斑的抑制率分别为65.85%、26.50%、21.86%,EC50为417.49mg/L。

[0075] 表2不同药剂对接种苹果树腐烂病菌的离体枝条的治疗作用

杀菌剂	浓度 (mg/L)	病斑面积 (mm ²)	抑制率 (%)	回归方程	EC50 (mg/L)
甲基硫菌灵	5000	160.86	72.42		
	3333	206.53	64.59	$y = 1.82x - 2.92$	3199.51
	2500	419.52	28.07		
无菌水对照	—	583.24	—		
丙环唑	500	199.18	65.85		
	333	428.68	26.50	$y = 0.82x - 3.82$	417.49
	250	455.74	21.86		
无菌水对照	—	583.24	—		

[0076]

[0077] 最后,相同条件下,采用传统的田间防效试验与本发明方法进行对比,以验证采用本发明进行检测的准确性。实验结果如表3所示。

[0078] 表3本发明方法试验和田间防效试验的关联度分析

杀菌剂	浓度 (mg/L)	处理病斑 数	复发病 斑数	复发率 (%)	防效 (%)
[0079] 甲基硫菌灵	5000	30	4	13.33	75.00
	3333	30	6	20.00	62.50
	2500	30	10	33.33	37.50
传统田间防效试验对比检测法		30	16	53.33	

[0080] 从上表3可以看出,田间和室内测定结果有明显的相关性,这表明此方法在进行抑菌活性检测时,检测结果可以作为最终抑菌活性评判依据。

[0081] 以上所述,仅是本发明的较佳实施例,并非对本发明做任何形式上的限制,凡是依据本发明的技术实质上对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化,均落入本发明的保护范围之内。



图1

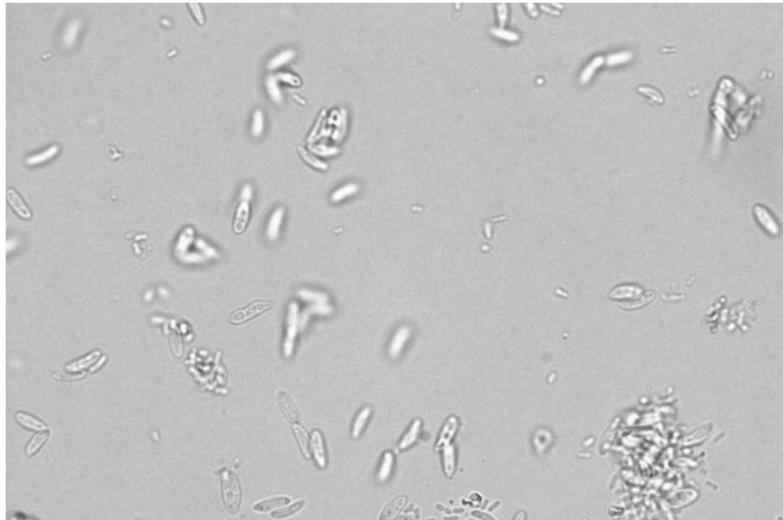


图2

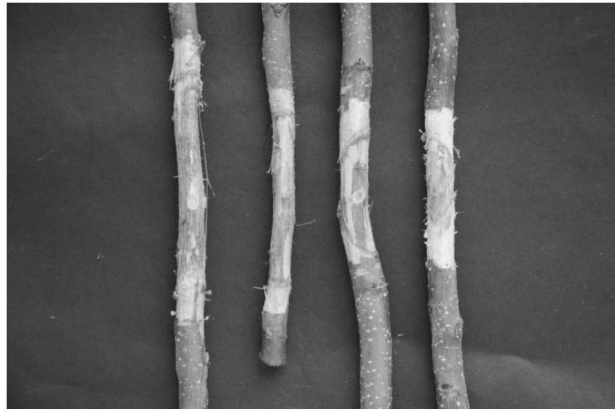


图3

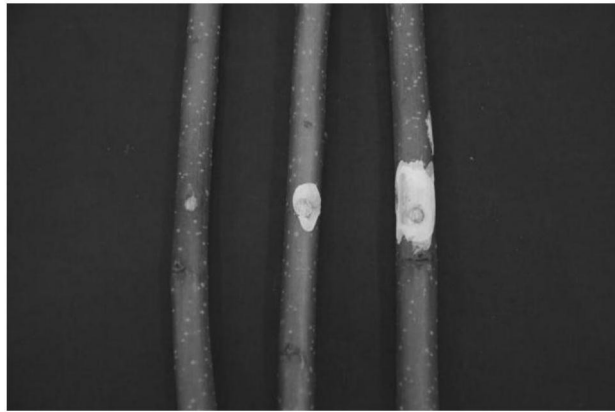


图4



图5