

不同水稻品种种子带菌检测及药剂消毒处理效果

刘西莉 李健强 朱春雨 张国珍 张龙

(中国农业大学种衣剂研究发展中心)

罗军 李小林 朱建军

房双龙

(云南省农业科学院农作物原种繁育中心)

(黑龙江省鸡西市种子公司)

摘要 采用平皿测定方法分别对黑龙江、云南、湖北和湖南等水稻主产区的 13 个当地主栽水稻品种进行了种子带菌检测和分离鉴定,研究了 5 种不同杀菌剂和 2 种水稻专用种衣剂对种子带菌的消毒处理效果。结果表明,水稻种子表面携带的优势菌群主要为 *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Aspergillus*; 种子内部寄藏的真菌主要有 *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, 其他分离频率较高的寄藏真菌还有 *Penicillium*, *Aspergillus* 和 *Rhizopus* 等; 不同水稻品种之间种子表面携带真菌种类有较大差异, 种子内部寄藏真菌种类差异不大。20% 克福甲水稻种衣剂, 20% 克多甲水稻种衣剂, 甲基立枯磷和福美双对于种子带菌消毒处理具有良好的效果, 显著优于多菌灵、恶霉灵和三唑类杀菌剂腈菌唑。

关键词 水稻; 带菌检测; 杀菌剂; 种子包衣; 消毒处理

分类号 S435.11

Testing of Seed Borne Fungi of Major Rice Varieties from China and Disinfection Effect of Several Fungicides to Seed Pathogens

Liu Xili Li Jianqiang Zhu Chunyu Zhang Guozhen Zhang Long

(R & D Center of Seed Coating Chemicals, CAU)

Luo Jun Li Xiaolin Zhu Jianjun

(Agricultural Crops Seeds Production Center, Yunnan Academy of Agricultural Science)

Fang Shuanglong

(Jixi Seed Company of Heilongjiang Province)

Abstract Seed-borne fungi and disinfection effect of several fungicides to seed pathogens were determined by means of petri-dish testing. The results showed that *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, and *Aspergillus* were main seed-borne pathogens on the surface of 13 major rice varieties from Heilongjiang, Hunan, Hubei, and some other provinces in China. *Fusarium*, *Alternaria*, and *Phoma* represented main seed-borne pathogens inside. The fungi on the surface of seed expressed significantly difference among experimental varieties, but seed-borne fungi inside showed no difference. 20% Carbofuran-Thiram-Rizolex seed coating formulation (SCF), 20% Carbofuran-Carbendazim-Rizolex SCF of rice, Thiram and Rizolex provided good controls for seed-borne fungi. Their inhibiting effect were much better than that of Carbendazim, Myclobutanil and Hymexazol.

收稿日期: 2000-03-03

农业部丰收计划项目(99-6-3-1-01-01)和云南省省院省校科技合作项目资助(99YN 01)

刘西莉, 北京海淀区圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区), 100094

Key words rice; testing of seed borne fungi; fungicide; seed coating treatment; disinfection effect of fungicides

水稻是我国栽培面积和产量均居首位的主要粮食作物,在我国农业生产中具有重要的地位。产前对水稻良种进行药剂消毒处理是提高水稻种子播种品质、秧苗抗病能力的经济有效、简便易行的措施。水稻种子处理是建立在水稻种子带菌检测和水稻种传、土传病害发生发展规律基础之上的一项综合技术。国内外的种子病理学工作者及杀菌剂技术开发人员在这方面做了大量研究。Agarwal 等曾使用吸水纸保湿检验法,琼脂平皿检验法^[1,2],在 3 种不同培养条件(28℃, NUV; 28℃, NUV; 28℃, DL)下对 18 个印度主栽水稻品种进行种子带菌检测研究;我国程志明、梁力哲等曾对国内部分地区水稻种子样品检测,结果表明:水稻种子内外寄藏真菌有 12 种之多,种子表面携带的真菌除少数寄生种类外,多数为腐生性真菌;水稻种子样品用琼脂或马铃薯葡萄糖琼脂平皿检验法分离检测到的真菌种类多于吸水纸保湿检验法获得的真菌种类^[3,4]。本试验旨在对前人未曾报道过的我国水稻主要产区黑龙江、云南、湖北和湖南 4 个省目前主栽的 13 个水稻品种进行种子带菌检测、分离鉴定和药剂拌种或包衣处理,根据水稻种子寄藏真菌种类及不同杀菌剂种子消毒处理效果筛选出适宜的药剂,为生产中使用杀菌剂、种衣剂处理种子防治水稻种子传带真菌病害提供参考和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

水稻品种 13 个: 合江 19、牡交 89-126、龙耿 8、空育 131(黑龙江鸡西种子公司提供);V 优 46、V 优晚三、培两优 288、新香优 80(湖南省种子管理站提供);金优 207、V 优 64(湖北省农科院提供);合系 35、合系 41、梵 8(云南省农作物原种繁育中心提供)。

杀菌剂: 50% 福美双 WP、50% 多菌灵 WP、70% 恶霉灵 WP、5% NaClO 均为市售; 20% 克多甲种衣剂、20% 克福甲种衣剂、40% 甲基立枯磷胶悬剂、0.5% 腈菌唑胶悬剂为中国农业大学种衣剂研究发展中心提供。

1.2 研究方法

1.2.1 种子带菌检测 种子外部带菌检测: 每个品种选出 100 粒种子,放入 250 mL 三角瓶中,加 25 mL 无菌水后充分震荡,收集悬浮液,以 2 000 r·min⁻¹ 的转速离心 10 min,加少量无菌水悬浮,各吸取 100 μL 加到 9 cm 直径 PDA 平板上,涂匀,相同操作条件下设无菌水空白对照。放入 22~ 28℃ 恒温箱中黑暗条件下培养 5 d 后观察。

种子内部带菌检测: 将不同品种水稻种子在 5% 的次氯酸钠溶液中浸泡 8 min,然后用无菌水冲洗 3 遍,取 40 粒种子将其颖壳和子粒分开,并将子粒在 5% 的次氯酸钠溶液中浸泡 8 min 进行表面消毒,分别将同一品种的整粒种子、颖壳和子粒均匀摆放在 9 cm 直径 PDA 平板上,每皿摆放 10 粒左右,每个处理 4 个重复。在 20~ 28℃ 温箱中 12 h 光照/黑暗交替下培养 5~ 7 d 后检查,记录种子带菌情况、不同部位真菌种类和分离频率。

1.2.2 真菌鉴定 将分离到的各种真菌进行纯化、转管保存后,镜检。根据真菌培养性状和形态特征,参考有关工具书和资料鉴定到属。

1.2.3 药剂抑菌效果检测 将不同品种水稻种子均分别用以下药剂处理: 50% 福美双 WP、

50% 多菌灵 WP 按 1 : 200 药种比拌种, 70% 恶霉灵 WP 以 1 : 180 药种比拌种, 5% 的次氯酸钠溶液浸种 8 min, 20% 克多甲种衣剂和 20% 克福甲种衣剂均按照 1 : 40 药种比包衣, 0.5% 腈菌唑胶悬剂和 40% 甲基立枯磷胶悬剂分别按照 1 : 40 和 1 : 160 药种比拌种, 以不做任何处理的整粒种子做空白对照。各处理种子均匀摆放在 9 cm 直径 PDA 平板上, 每皿 10 粒, 每个处理 4 个重复。在 25 ~ 28 °C 温箱中 12 h 光照/黑暗交替下培养 5~7 d 后检查, 记录各种种子带菌情况和药剂抑菌效果。

2 结果与分析

2.1 种子外部带菌

不同水稻品种种子携带的真菌有较大差异(表 1)。合江 19、牡交 89-126 和空育 131 种子外部带菌率较高, 种子表面携带的优势菌群主要为 *Cladosporium* (芽枝霉属)、*Alternaria* (交链孢霉属)、*Fusarium* (镰孢霉属)、*Penicillium* spp. (青霉菌)。龙耿 8 和金优 207 种子外部带菌率较低, 其中 *Penicillium* 和 *Phoma* (茎点菌属) 为优势菌群; 金优 207 种子外部还分离到 *Cladosporium* 和 *Aspergillus candidus* (白曲霉)。V 优 64、V 优 46、V 优晚三、培两优 288 和新香优 80 种子表面携带的真菌中 *A. flavus* (黄绿曲霉)、*A. niger* (黑曲霉) 和 *Rhizopus* (根霉属)、*Penicillium* 占主要地位; V 优 64 上还分离到 *Fusarium*、*Cladosporium*; 新香优 80 上分离到 *Mucor* spp. (毛霉菌)、*Aspergillus candidus*; 培两优 288 上分离到 *Fusarium*、*Cladosporium*、*Phoma*。合系 35、合系 41 和 梵 8 的种子外部携带的真菌主要为 *Penicillium* 和 *F. graminearum*, 梵 8 的种子外部还带有部分 *Trichoderma* (木霉属)。

表 1 水稻种子外部携带真菌种类和分离比例

水稻品种	<i>Cladosporium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Phoma</i>	其他菌
合江 19	41.6	29.2	29.2	-	-	-	-	-
牡交 89-126	48.4	16.1	35.5	-	-	-	-	-
龙耿 8	-	-	-	-	-	40.0	60.0	-
空育 131	36.1	31.3	22.9	-	-	2.4	-	7.2
V 优 46	-	-	-	80.0	-	20.0	-	-
V 优晚三	6.3	-	-	31.3	18.8	43.7	-	-
培两优 288	13.9	-	-	57.4	3.0	18.8	2.0	0.9
新香优 80	-	-	-	50.0	28.1	15.6	-	6.3
金优 207	11.8	-	-	23.5	-	58.8	5.9	-
V 优 64	3.6	-	5.4	75.0	-	7.1	-	8.9
合系 35	-	-	50.0	-	-	50.0	-	-
合系 41	-	-	60.0	-	-	40.0	-	-
梵 8	-	-	54.7	-	-	39.6	-	5.7

2.2 种子内部带菌

2.2.1 带菌率、带菌种类和分离频率 检验结果(表 2)表明, 水稻各品种之间所带真菌种类差异不大, *Alternaria*、*Fusarium* 和 *Cladosporium* 的分离频率均比较高。种子产地来源和携带

真菌的分离频率有明显的相关性, 来源于黑龙江的水稻品种上 *Fusarium* 出现频率相对最高, 云南的品种上 *A lternaria* 的出现频率最大, 来源于湖北、湖南的水稻大多品种上分离到 *A spergillus*, 并在某些品种上占有主要地位。在种子带菌率方面, 牡交 89、培两优 288 和 秣 8 的带菌率较高(大于 70.0%), 其次是合江 19、龙耿 8、空育 131、合系 41(带菌率大于 50%), 新香优 8Q、V 优 46、V 优晚三、合系 35 的带菌率较低(小于 40%)。

表 2 水稻种子内部带菌分离频率

水稻品种	检测品种数	带菌品种数	带菌率 %	带菌种类和分离频率 %				
				<i>A lternaria</i>	<i>A spergillus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Cladosporium</i>	其他
合江 19	40	26	65.0	50.0	-	96.0	19.2	11.5
牡交 89-126	40	30	75.0	26.7	-	63.3	10.0	7.5
龙耿 8	40	21	52.5	30.0	-	70.0	13.3	-
空育 131	40	23	57.5	63.3	-	56.7	36.7	10.0
V 优 46	50	17	34.0	10.0	-	8.0	16.8	6.8
V 优晚三	50	15	30.0	10.0	10.0	12.0	6.7	-
培两优 288	45	33	73.3	10.0	8.9	16.8	40.0	28.8
新香优 80	45	9	20.0	-	6.7	8.9	4.5	6.7
金优 207	50	21	42.0	7.5	50.0	7.5	16.8	5.0
V 优 64	40	16	40.0	7.5	30.0	5.0	5.0	7.4
合系 35	45	17	37.8	75.0	-	20.0	5.0	-
合系 41	60	38	63.3	52.5	-	45.0	-	2.5
秣 8	60	46	76.7	70.7	-	29.3	-	-

2.2.2 带菌寄藏部位 检测结果表明, 合江 19、龙耿 8、空育 131、牡交 89-126、V 优 46 水稻品种的颖壳和子粒上均寄藏有 *A lternaria*, *Fusarium* 和 *Cladosporium*, 颖壳上的分离频率较子粒高; V 优 64、V 优晚三、培两优 288、新香优 8Q、金优 207 品种的颖壳和子粒上寄藏真菌的种类有一定差异, 颖壳上主要寄藏有 *A lternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *R hizopus* 和 *A spergillus*, 子粒上仅分离到 *Fusarium* spp., 金优 207 子粒上未分离到真菌。

2.3 药剂对带菌种子的抑菌效果

结果表明, 福美双对于种子表面消毒处理具有良好的效果, 显著优于 NaClO 、多菌灵。经福美双处理后各品种水稻种子带菌率小于 13.3%, 药剂处理后种子携带的真菌种类主要是 *Fusarium* 和 *Penicillium* spp.; 多菌灵处理的合江 19、龙耿 8、空育 131、牡交 89-126、V 优 46 水稻品种种子带菌率达 76%, 主要为 *A lternaria* 和 *R hizopus*, 对于种子携带的 *Fusarium* 具有良好的抑菌效果。V 优 64、V 优晚三、培两优 288、新香优 8Q、金优 207 水稻品种种子带菌率达 33.0%, 主要携带的真菌为 *Penicillium* spp 和 *R hizopus*。甲基立枯磷、恶霉灵处理的水稻种子带菌率小于 17.5%, 分离到的真菌主要为 *Cladosporium*, 其次为 *Fusarium*; 腈菌唑处理的种子带菌率达 32.0%, 携带的真菌主要为 *Fusarium*; 20% 克多福种衣剂包衣处理的种子带菌率小于 7.5%, 20% 克福甲种衣剂处理的小于 5.0%, 种子抑菌效果显著。

表3 药剂处理的种子带菌率检测结果

Q/%

处理药剂	水稻品种									
	合江 19	牡交 89-126	龙耿 8	空育 131	V 优 46	V 优 晚三	培两优 288	新香优 80	金优 207	V 优 64
50% 福美双	13.3	-	3.3	-	-	6.7	13.3	-	3.3	3.3
50% 多菌灵	72.5	96.6	65.0	76.7	33.3	16.7	16.7	17.5	6.7	36.7
70% 恶霉灵	13.3	7.5	17.5	12.5	7.5	5.0	2.5	2.5	-	-
40% 甲基立枯磷	7.5	2.5	3.3	-	-	2.5	5.0	-	-	-
0.5% 腈菌唑	30.0	32.0	22.5	17.5	5.0	17.5	22.5	2.5	-	17.5
20% 克多甲种衣剂	7.5	5.0	7.5	7.5	-	5.0	7.5	-	-	-
20% 克福甲种衣剂	2.5	-	-	2.5	-	5.0	-	-	-	-
5% NaClO	73.3	20.0	63.3	62.5	65.0	10.0	7.5	5.0	10.0	36.0
CK	96.7	93.3	93.3	96.7	76.6	76.6	47.5	22.5	45.0	37.5

3 结论和讨论

本试验结果表明, 来自黑龙江、云南、湖北和湖南等水稻主产区的 13 个当地主栽水稻品种种子外部携带的真菌种类有较大差异(表 1), 内部寄藏的真菌种类差异不大(表 2)。水稻种子表面携带的优势菌群主要为 *Fusarium*, *A lternaria*, *Penicillium*, *R hizopus*, *Cladosporium*, *A spergillus* 和 *Phoma*; 种子品种与外部携带真菌的分离比例和种子带菌率有明显的关系, 其中合江 19、牡交 89-126、空育 131 种子外部带菌率较高, 龙耿 8、金优 207 种子外部带菌率较低; 种子内部寄藏的真菌主要有 *Fusarium*, *A lternaria*, *Cladosporium*。其他分离频率较高的还有 *Penicillium*, *R hizopus* 和 *A spergillus*, 种子产地来源和携带真菌的分离频率有明显的关系, 来源于黑龙江的水稻品种上 *Fusarium* 出现频率相对最高, 云南的品种上 *A lternaria* 的出现频率最大, 来源于湖北、湖南的水稻大多品种上分离到 *A spergillus*, 并在某些品种上占有主要地位。不同品种水稻种子颖壳和子粒的带菌检测表明, 颖壳上真菌的寄藏种类和分离频率比子粒高, 子粒上 *Fusarium* 的出现较为普遍, 金优 207 子粒上未分离到真菌。

5 种不同杀菌剂和 2 种水稻专用种衣剂对带菌种子的抑菌处理效果表明, 福美双对于种子表面带菌具有良好的抑菌效果, 但由于福美双为保护性杀菌剂, 无内吸作用, 为了有效地防治种子传带的病害, 还需和内吸性的药剂复配。多菌灵对于种子携带的 *Fusarium* 具有好的抑菌效果, 但对于种子传带的其他真菌效果较差。具有保护、治疗作用的内吸性杀菌剂甲基立枯磷、恶霉灵和混配制剂 20% 克多甲水稻种衣剂、20% 克福甲水稻种衣剂对于种子带菌消毒效果显著, 其中 20% 克福甲水稻种衣剂的效果最好。三唑类杀菌剂腈菌唑对于种子表面消毒处理具有良好的效果, 但对于种子内部寄藏的 *Fusarium* 效果较差。因此种子经腈菌唑包衣后进行带菌检测, 7 天之内包衣种子的带菌率很低, 7 天之后包衣种子带菌率逐步上升, *Fusarium* 出现频率最高。

参 考 文 献

- 1 Agarwal V K. Seed-borne fungi and virus of some important crops. Pantnagar (Nainital), India: University Press, 1981, 16~ 45
- 2 Agarwal V K, Singh O V. Relative percentage incidence of seed-borne fungi associated with different varieties of rice seeds. Seed Research, 1974, 2: 23~ 25
- 3 程志明. 水稻种子真菌区系研究. 黑龙江农业科学, 1993, (6): 25~ 27
- 4 梁力哲, Kaare Moller. 中国水稻种子上常见寄生性真菌的检验识别. 植物保护, 1989, 15(2): 42~ 44
- 5 尼尔高P 著. 种子病理学. 狄原渤, 李学书, 朱之靖, 等译. 北京: 农业出版社, 1984
- 6 方中达. 植病研究方法(第3版). 北京: 中国农业出版社, 1998
- 7 周与良, 邢来君. 真菌学. 北京: 高等教育出版社, 1990
- 8 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1979
- 9 康振生, 黄丽丽, 李金玉. 植物病原真菌超微形态. 北京: 中国农业出版社, 1997
- 10 李洪连, 张新, 袁红霞, 等. 玉米杂交种穗粒腐病原鉴定. 植物保护学报, 1999, 26(4): 305~ 308
- 11 Premala J, Seneviratne S N. Fungi seed-borne in rice (*Oryza sativa*) in Sri Lanka. Seed Sci & Technol, 1991, 19: 561~ 569