

# 皖南烟稻轮作区水稻稻曲病的调查与防治

李云<sup>1</sup>, 杨亚曦<sup>2</sup>, 朱启法<sup>1</sup>, 林硕<sup>1</sup>, 刘国侠<sup>1</sup>

(1. 安徽皖南烟叶有限责任公司, 安徽宣城 242000; 2. 贵州大学农学院, 贵州贵阳 550025)

**摘要** [目的] 筛选适合皖南烟区稻曲病防治的杀菌剂, 为皖南烟区水稻稻曲病的防治提供参考。[方法] 对南粳 9108 水稻稻曲病的发病情况进行了调查及病原菌鉴定, 同时采用生长速率法测定 6 种杀菌剂对稻曲病病原菌的室内毒性。[结果] 南粳 9108 水稻稻曲病的发生较严重, 发病率达 62%; 稻曲病病原菌为半知菌亚门稻绿核菌属绿核菌; 6 种药剂对菌丝生长的抑制效果不同, 30% 苯甲·丙环唑 EC 和 6% 井冈·枯芽菌 WP 的抑菌作用最强, 其  $EC_{50}$  分别为 0.245 7 和 3.150 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。[结论] 30% 苯甲·丙环唑 EC 和 6% 井冈·枯芽菌 WP 的防治效果较好, 可进一步用于大田防治试验。

**关键词** 稻曲病; 病害调查; 病原菌鉴定; 杀菌剂筛选

**中图分类号** S435.111.4<sup>+</sup>6 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)23-126-03

## Investigation and Control of Rice False Smut in Wannan Tobacco-rice Rotation Area

LI Yun<sup>1</sup>, YANG Ya-xi<sup>2</sup>, ZHU Qi-fa<sup>1</sup> et al (1. Anhui Wannan Tobacco Co., Ltd., Xuancheng, Anhui 242000; 2. College of Agronomy, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

**Abstract** [Objective] To screen fungicides suitable for rice false smut in Wannan Tobacco-rice Rotation Area, and to provide references for the control of rice false smut in Wannan Tobacco-rice Rotation Area. [Method] Incidence of rice false smut in Nanjing 9108 was investigated; and the pathogenic identification was carried out. At the same time, growth rate method was used to detect the indoor toxicities of 6 fungicides to rice false smut. [Result] The rice false smut of Nanjing 9108 was relatively serious with its incidence reaching 62%. The pathogen was identified to be *Ustilaginoidea virens* (Cooke.) Takah. Different fungicides had different inhibition effects on mycelium growth of rice false smut.  $EC_{50}$  of 30% difenoconazole·propiconazole EC and 6% Jinggaangmycin·*Bacillus subtilis* WP were 0.245 7 and 3.150 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively, which had the strongest bacteriostasis. [Conclusion] 30% difenoconazole·propiconazole EC and 6% Jinggaangmycin·*Bacillus subtilis* have relatively good control effects, which can be used for further prevention and control experiment in the fields.

**Key words** Rice false smut; Disease investigation; Pathogenic identification; Screening of fungicides

烟稻轮作种植模式是指烟草和水稻充分利用土地, 实现土地用养, 从而有效地提高水稻品质、增加经济效益<sup>[1]</sup>。近年来, 皖南烟区推行烟稻轮作种植模式, 旨在解决烟叶连作障碍的同时充分利用土地资源, 实现利益最大化。

随着高产优质水稻大面积推广、相应施肥水平的提高, 稻曲病危害逐年加重<sup>[2]</sup>。该病不仅造成水稻减产, 其带有毒素的孢子还会污染健康的稻谷, 降低稻米的品质, 严重制约着水稻的无公害生产<sup>[3]</sup>。多数水稻品种不能对稻曲病菌高抗, 因此, 筛选高效低毒药剂成为防治稻曲病的一个重要手段。鉴于此, 笔者对水稻稻曲病进行了系统的病害调查及室内药剂试验, 以期对稻曲病的防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试作物。水稻品种: 南粳 9108。

1.1.2 供试农药。30% 苯甲·丙环唑 EC[先正达(苏州)作物保护有限公司]、6% 井冈·枯芽菌 WP(江苏省苏科农化有限责任公司)、25% 氟环唑 SC(山东省联合农药工业有限公司)、20% 井冈霉素 WP(浙江省桐庐汇丰生物科技有限公司)、75% 肟菌·戊唑醇 WG[拜耳作物科学(中国)有限公司]、50% 多菌灵 WP(江苏省江阴市农药二厂有限公司)。

1.2 调查地概况 皖南烟区地处安徽省宣城市宣州区杨柳

镇, 属亚热带湿润季风气候, 阳光充足, 年降雨量大。烟区水稻种植面积大, 种植品种达 20 余种。随着种植年份的增加, 稻曲病在某些水稻品种上的发病也越严重, 严重影响水稻的品质和经济效益。

1.3 调查方法 于 2015 年 7 月(拔节期)开始对南粳 9108 稻曲病进行定点、定期调查并拍照。从水稻拔节期开始, 采用 5 点法, 每小区随机选取 10 穗水稻, 每隔 10 d 调查一次稻曲病的发生情况, 至蜡熟期为止。按稻曲病分级标准进行病害统计, 计算其穗发病率及病情指数。稻曲病分级标准: 0 级, 未发病; 1 级, 1 个菌球; 2 级, 2~5 个菌球; 3 级, 6~10 个菌球; 4 级, 11~15 个菌球; 5 级, 16 个菌球以上<sup>[4]</sup>。

穗发病率 = 调查病穗数/调查总穗数 × 100%

病情指数 =  $\sum[(\text{各级穗数} \times \text{该级代表值}) / (\text{调查总穗数} \times 5)] \times 100$

### 1.4 病原菌的鉴定及致病性测定

1.4.1 形态学鉴定。选取具有典型症状的稻曲病样品, 徒手切片、刮取或挑取病部病征制片, 显微镜下观察病原菌形态特征。对分离纯化得到的病原菌, 观测其在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)上培养的性状, 包括菌落的性状、大小和颜色等, 观测菌丝及厚垣孢子的形态特征, 描述其形态并进行显微拍照等。根据病组织症状, 结合病原菌形态特征进行病原菌的初步鉴定<sup>[5]</sup>。

1.4.2 分子鉴定。对已分离纯化的病原菌, 采用 CTAB 法进行 DNA 的提取, 然后在 ITS 等保守的区域设计通用引物, PCR 扩展、测序, 最后对测序的结果在 NCBI 上进行 Blast 比对鉴定到属或种<sup>[6]</sup>。

**基金项目** 安徽皖南烟叶有限责任公司与上海烟草集团合作技术开发项目(SZBCW2015)。

**作者简介** 李云(1988-), 女, 安徽宣城人, 助理农艺师, 硕士, 从事水稻栽培、病害防治研究。

**收稿日期** 2016-07-06

**1.5 防治药剂筛选** 采用生长速率法测定 6 种杀菌剂对稻曲病菌的抑菌效果。将供试杀菌剂分别于无菌条件下配成对应浓度的 10 倍,取 1 mL 母液和 9 mL PDA 培养基混匀后倒入 9.0 cm 培养皿中,制成所需浓度的培养基,每处理 3 个平行。用内径为 0.5 cm 打孔器在经分离培养的菌落上打取菌饼,将带菌丝面转接至每个含药的 PDA 平板上,同时以加入等量无菌水作为对照(CK)。在 25 °C 恒温箱中培养 5 d 后用十字交叉法测量菌落直径,取均值并计算抑制率。运用 DPS7.05 数据处理软件<sup>[7]</sup>,分别以处理浓度的对数值为横坐标,抑制率为纵坐标计算毒力回归方程,并求出抑制中浓度( $EC_{50}$ )及相关系数( $r$ )<sup>[8]</sup>。

抑制率 = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 0.5) × 100%

## 2 结果与分析

**2.1 稻曲病田间发病情况** 由图 1 可知,水稻稻曲病的调查从 7 月 21 日开始,7 月 31 日开始发病,且发病越来越重。其中,8 月 10 日发病率为 26%,病情指数 10.0,分别较 7 月 31 日发病率(6%)、病情指数(1.2)提高 20%、8.8;8 月 20 日发病率为 40%,病情指数为 17.2,分别比 8 月 10 日提高 14%、7.2,这 2 个时期的变化尤为显著,病害发生严重。分析原因,除遗传因素外,该区域 7~8 月为降雨多发月份,正值南粳 9108 孕穗期、抽穗期的稻曲病易发生育期,因而造成了稻曲病的大暴发。

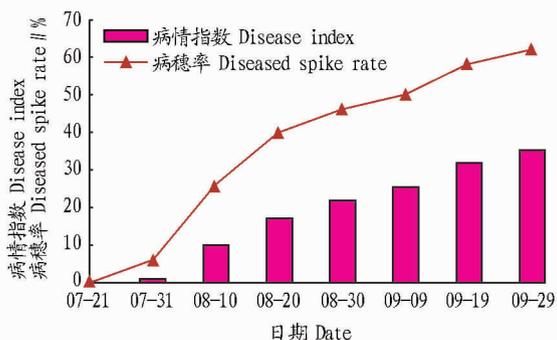


图 1 稻曲病病穗率和病情指数变化趋势

Fig. 1 The change trend of diseased spike rate and disease index of rice false smut

## 2.2 稻曲病病原菌的鉴定

**2.2.1 发病症状。**稻曲病在开花后至乳熟期发病,病菌危害穗部谷粒。发病初期在颖壳外形成乳白色的薄膜包被的扁平球体,在颖壳内部形成菌丝块并逐渐长大,露出淡黄色小型块状物,而后小型块状物逐渐长大并撑开内外颖壳自合缝处外露,包裹整个花器,最后逐渐开裂并有绿褐色绒状物生出,整个病粒形成 1 个菌核结构<sup>[9]</sup>。一般每穗稻上的病粒数为 1~10 粒,多则超过 20 粒。

**2.2.2 形态学特征。**稻曲病菌在 PDA 上培养 3 d 左右产生白色菌丝,后菌落逐渐扩大,7 d 左右开始形成渐黄色厚垣孢子堆(图 2)。厚垣孢子有黄色、黄绿色和黑色 3 种类型<sup>[10]</sup>,侧生于菌丝上,球形或椭圆形,大小为(4.0~7.8) × (3.0~7.0) μm。未成熟的厚垣孢子较小,黄色光滑而透明,胞内基

质均匀,周围刺不明显;成熟的厚垣孢子较大,颜色深墨绿色至黑色,壁厚 0.3 μm,胞内基质浓厚,周围有明显的瘤状突起(图 3)。



图 2 稻曲病原菌 PDA 上分离纯化

Fig. 2 The purification of rice false smut in PDA



图 3 稻曲病原菌厚垣孢子

Fig. 3 The chlamydo-spore of rice false smut

**2.2.3 分子生物学鉴定。**以分离纯化得到的菌株基因组 DNA 为模板,以 ITS1 和 ITS4 引物进行 PCR 扩增,产物送至北京诺赛基因组研究中心有限公司进行测序,得到菌株的 ITS 区序列: TGAAACTCCAACCTCAAACGAAAGTCGTATGCG-TGCGACAAAAGCGAAGCGTCTCTCAATGCTTTTATGGCTTTC-GGAAGTAAAGCGCTAATTCTCGTTATCGAAGATTTTTACGCTG-ACTCTAAAACCTAGGCTACTATCTGAAGATGTTCCCTGATGTT-CAGCAAAAACTGCGTCTGGATTTTTGACCACCCTGTGGAA-CAAGGATCCGTTCCGAAATAAATGGGCGTTGATAGCCAAA-GTTA。上述序列经 Blast 并与 NCBI 数据库中的已知序列进行同源性比较,并结合形态学鉴定结果,该病原菌为半知菌亚门稻绿核菌属绿核菌 [*Ustilagoidea vires* (Cooke.) Takah]。

## 2.3 各种杀菌剂对稻曲病病原的抑制作用

**2.3.1 抑制率。**由表 1 可知,菌丝的生长在设定药剂浓度的范围内均受到不同程度的抑制,且抑制率随药剂浓度的升高而增大。各药剂的抑制率大小顺序为 30% 苯甲·丙环唑 EC、6% 井冈·枯芽菌 WP、25% 氟环唑 SC、20% 井冈霉素 WP、75% 肟菌·戊唑醇 WG、50% 多菌灵 WP。

表1 不同杀菌剂对稻曲病原菌丝生长的抑制作用

Table 1 Inhibitory effects of different fungicides on pathogen filament growth of rice false smut

药剂 Medicament	使用浓度 Concentration μg/mL	菌落直径 Colony diameter cm	抑制率 Inhibition ratio//%
30% 苯甲·丙环唑 EC	1	1.5	58.33
30% difenoconazole·propiconazole EC	10	1.3	66.67
6% 井冈·枯芽菌 WP	100	1.0	79.17
6% 井冈霉素 WP	1	1.8	45.81
6% Jिंगgangmycin· <i>Bacillus subtilis</i> WP	10	1.6	54.20
25% 氟环唑 SC	100	1.4	62.51
25% epoxiconazole SC	1	2.3	25.00
20% 井冈霉素 WP	10	1.8	45.83
20% Jिंगgangmycin WP	100	1.3	66.67
75% 肟菌·戊唑醇 WG	1	2.1	33.32
75% Trifloxystrobin·tebuconazole WG	10	1.9	41.66
50% 多菌灵 WP	100	1.5	58.34
50% carbendazim WP	1	2.2	29.17
对照 Control	10	2.0	37.50
	100	1.7	50.01
	1	2.7	8.33
	10	2.5	16.66
	100	2.1	33.33
		2.9	

2.3.2 毒力。由表2可知,6种供试药剂的浓度与抑菌率的相关系数均大于0.9,线性关系良好。各药剂中,30%苯甲·丙环唑 EC 的抑菌作用最强,其  $EC_{50}$  值为 0.245 7 μg/mL; 6%井冈·枯芽菌 WP 次之,其  $EC_{50}$  值为 3.150 1 μg/mL,其抑菌作用较强;25%氟环唑 SC、20%井冈霉素 WP 也有较好的抑菌活性,其  $EC_{50}$  值分别为 16.233 0 和 28.046 0 μg/mL; 75%肟菌·戊唑醇 WG 的抑菌活性较差,尤以 50%多菌灵 WP 的抑菌作用最差, $EC_{50}$  值为 885.481 5 μg/mL。

### 3 结论与讨论

通过对稻曲病原菌形态学特性和分子生物学鉴定,确定了稻曲病原菌为半知菌亚门稻绿核菌属绿核菌。防治稻曲病应掌握防治时期,尤其是孕穗期至抽穗期遇多雨天气,发病多且重,应抓住雨停时间及时施药,错过施药时间,防治效果会明显下降。

除气候因素外,水稻稻曲病防治药剂的单一和局限性,常常得不到及时有效的预防和控制。试验结果表明,6种杀菌剂对稻曲病菌菌丝的生长均有不同程度的抑制作用,可选用 30%苯甲·丙环唑 EC 和 6%井冈·枯芽菌 WP 交替施用,提高防治效果的同时降低稻曲菌抗药性能,以有效防控皖南烟区水稻稻曲病的发生。

表2 不同杀菌剂对稻曲病原菌的毒力

Table 2 Virulences of different fungicides to pathogen of rice false smut

药剂 Medicament	回归方程 Regression equation	$EC_{50}$ μg/mL	相关系数(r) Correlation coefficient
30% 苯甲·丙环唑 EC 30% difenoconazole·propiconazole EC	$y = 5.1835 + 0.3010x$	0.2457	0.9883
6% 井冈·枯芽菌 WP 6% Jिंगgangmycin· <i>Bacillus subtilis</i> WP	$y = 4.8943 + 0.2121x$	3.1501	1
25% 氟环唑 SC 25% epoxiconazole SC	$y = 4.3312 + 0.5527x$	16.2330	0.9998
20% 井冈霉素 WP 20% Jिंगgangmycin WP	$y = 4.5355 + 0.3208x$	28.0460	0.9841
75% 肟菌·戊唑醇 WG 75% Trifloxystrobin·tebuconazole WG	$y = 4.4368 + 0.2742x$	113.2414	0.9957
50% 多菌灵 WP 50% carbendazim WP	$y = 3.5966 + 0.4762x$	885.4815	0.9973

### 参考文献

- [1] 范月梅. 烟稻轮作种植模式分析[J]. 吉林农业, 2012(4): 109.
- [2] 蔡广成, 孙友武, 张梦梅. 6% 井冈霉素·240 亿枯草芽孢杆菌 WP 对稻曲病的控制效果研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(8): 4576-4577.
- [3] 陈曜. 稻曲病菌的生物学、侵染特性与防治[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [4] 邓根生, 刘铸德, 杨治华. 稻曲病分级标准研究[J]. 陕西农业科学, 1989(4): 23-25.
- [5] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [6] 周小燕. 贵州柑橘主要真菌病害防治药剂筛选及抗病品种引进[D]. 贵

- 阳: 贵州大学, 2012.
- [7] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其计算机处理平台[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 135-139.
- [8] 孙广宇, 宗兆锋. 植物病理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [9] 夏宝远, 王林. 我国水稻稻曲病的研究现状[J]. 畜牧与饲料科学, 2009, 30(1): 33-34.
- [10] 张君成, 陈志谊, 张炳欣, 等. 稻曲病菌的形态学观察研究[J]. 植物病理学报, 2003, 33(6): 517-523.

(上接第 125 页)

- [4] MICHEL B E, WIGGINS O K, OUTLAW JR W H. A guide to establishing water potential of aqueous two phase solutions (polyethylene plus dextran) by amendment with mannitol[J]. Plant physiology, 1983, 72: 60-65.
- [5] BOUSLAMA M, SCHAPAUGH W T. Stress tolerance in soybeans. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance[J].

- Crop science, 1984, 24(5): 933-937.
- [6] 张健, 池宝亮, 黄学芳, 等. 以活力抗旱指数作为玉米萌芽期抗旱性评价指标的初探[J]. 华北农学报, 2007, 22(1): 22-25.
- [7] NUNEZ M R, CALVO L. Effect of high temperatures on seed germination of *Pinus sylvestris* and *Pinus halepensis* [J]. Forest ecology management, 2000, 131(1/2/3): 183-190.