

蔡伟, 严卓晟, William Jia Lan, 彭彬, 钟坚文, 张杰, 胡琼波. 超声波处理对稻谷表面微生物的影响 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(5): 99-106.

超声波处理对稻谷表面微生物的影响

蔡伟¹, 严卓晟², William Jia Lan³, 彭彬⁴, 钟坚文², 张杰², 胡琼波¹

(1. 华南农业大学农学院, 广东 广州 510642; 2. 广州市金稻农业科技有限公司, 广东 广州 510075;
3. 上海交通大学法学院, 上海 200240; 4. 广东省农业机械化技术推广总站, 广东 广州 510500)

摘要:【目的】考察超声波处理对种谷表面真菌与细菌的影响, 比较不同处理方式的杀菌效果, 分析影响超声波杀菌作用的因素以及超声波促进稻谷萌发与壮秧的原因。【方法】以水稻品种象牙香占的种谷为材料, 设 25~50 kHz 变频超声波湿法 (T_{wet}), 50 kHz 超声波干法 (T_{dry1}) 和 25 kHz 超声波干法 (T_{dry2}) 3 个处理, 以常规湿法 (CK1) 与干法 (CK2) 为对照, 3 次重复。采用 PDA 平板涂布法分离种谷表面微生物, 结合菌落形态及菌体显微结构, 以及 ITS 序列同源性分析, 鉴定真菌与细菌。【结果】超声波处理对种谷有杀菌作用, 其中超声波湿法处理 (T_{wet}) 优于干法处理, 而 50 kHz 超声波干法处理 (T_{dry1}) 优于 25 kHz 超声波干法处理 (T_{dry2})。检测到的 15 种种谷表面细菌中, 超声波对甘蔗黄单胞菌 *Xanthomonas sacchari*、假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*、粘金黄杆菌 *Chryseobacterium gleum*、成团泛菌 *Pantoea agglomerans*、嗜麦芽窄食单胞菌 *Stenotrophomonas maltophilia* 等丰度较低的细菌杀菌效果较好, 但对阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae* 和肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumoniae* 等高丰度细菌杀菌效果较差。从稻谷表面检测到 11 种真菌, 超声波对层生镰刀菌 *Fusarium proliferatum*、尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*、串珠镰刀菌 *F. moniliforme*、木贼镰刀菌 *F. equiseti* 与茎点霉菌 *Phoma* sp. 等杀菌效果较好, 而对稻叶鞘腐败病菌 *Sarocladium oryzae* 及草酸青霉菌 *Penicillium oxalicum* 等杀菌效果不显著, 可能是由于后者丰度太高所致杀菌效果偏低。【结论】超声波处理对水稻种谷表面微生物具有杀菌作用, 但其效果与超声波处理方式、微生物种类及其丰度有关, 超声波湿法处理杀菌效果比干法处理更好, 超声波对低丰度的镰孢菌类具有显著杀菌效果, 可能是促进水稻萌发与壮秧的原因之一。

关键词: 水稻; 超声波; 细菌; 真菌; 杀菌

中图分类号: S432.1

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X(2019)05-0099-08

Effect of Ultrasonic Wave on Microorganisms on the Surfaces of Rice Seeds

CAI Wei¹, YAN Zhuosheng², LAN William Jia³, PENG Bin⁴, ZHONG Jianwen², ZHANG Jie², HU Qiongho¹

(1. College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Guangzhou Golden Rice Agricultural Science & Technology Co., Ltd, Guangzhou 510075, China;

3. School of Law, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China; 4. General Station of Agricultural Mechanization Technology Extension in Guangdong, Guangzhou 510500, China)

Abstract: 【Objective】Ultrasound wave (USW) treatment of rice seeds can promote seed germination and seedling growth, but its bactericidal effect is not clear. In this study, we intend to investigate the effects of USW on fungi and bacteria on the surface of rice seeds, and to evaluate the antimicrobial efficacy of different USW treatments and the influencing factors. We also try to analyze the reasons of the promotion of rice germination and seedling growth by USW. 【Methods】

收稿日期: 2019-03-04

作者简介: 蔡伟 (1991—), 男, 在读硕士生, 研究方向为真菌分离鉴定及生物活性, E-mail: 1156423788@qq.com

通信作者: 胡琼波 (1963—), 男, 博士, 教授, 研究方向为真菌多样性与微生物农药, E-mail: hqbscau@scau.edu.cn

Using the rice cultivar, Xiangyaxiangzhan, as material, three treatments, 25–50 kHz USW_{wet} method (T_{wet}), 50 kHz USW drying method (T_{dry1}) and 25 kHz USW drying method (T_{dry2}), were set up. The conventional_{wet} method (CK1) and dry method (CK2) were taken as controls. The experiments were repeated three times. Microorganisms on the seed surfaces were separated by PDA plates. The fungi and bacteria were identified by combining colony features, microscopic structures and ITS sequences analysis. 【Results】USW had substantial bactericidal and fungicidal effects on seed surfaces. _{wet} treatment of USW (T_{wet}) was better than dry treatment (T_{dry1} , T_{dry2}), and the 50 kHz USW (T_{dry1}) was better than 25-kHz USW (T_{dry2}). Among the 15 species of bacteria detected on seed surfaces, USW had the significant bactericidal effects on low abundance bacterial species such as *Xanthomonas sacchari*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chryseobacterium gleum*, *Pantoea agglomerans* and *Stenotrophomona maltophilia*, but USW had not effects on the higher abundance bacteria such as *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae*. Eleven fungi were detected on the seed surfaces, USW had better fungicidal effects on *Fusarium proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. equiseti* and *Phoma* sp. But USW had not apparent effects on *Sarocladium oryzae* and *Penicillium oxalicum* with the relatively higher richness. 【Conclusion】USW has antimicrobial effects on rice seed surfaces, but the effects are related to the treatment ways of USW, microorganism species and their abundance. USW treatment on_{wet} seeds has better bactericidal and fungicidal effects than those of USW treatment on dry seeds. USW has significant fungicidal effects on *Fusarium* spp with low abundance, which may be one of the reasons for promoting rice germination and seedling growth.

Key words: rice; ultrasonic wave; bacteria; fungi; antimicrobial

【研究意义】水稻是我国的主要粮食作物，其高产稳产是我国粮食安全的重要基础。随着人们生活水平的提高，人们对食品安全问题日益关注。种子处理技术因其具备环境污染小、对病虫害防治效果好的特点，越来越受到政府的重视与市场的欢迎^[1-2]。超声波是一种频率超过 20 kHz 的压力波，它具有很好的方向性与穿透能力，因而在卫生健康、科研与工农业生产领域被广泛应用^[2]。种子超声波处理不同于化学处理，其安全性更好，无污染，处理效率更高，更方便易用，因而近年来得到广泛发展。但是超声波处理水稻种子尚处于发展初期，它可促进发芽与培育壮秧^[2]，但是否具有杀菌作用或者对水稻芽期和苗期病害的防治作用不得而知。研究超声波对水稻种谷表面微生物的影响有助于促进种子处理技术的发展与应用，为保证国家粮食安全做出贡献。【前人研究进展】超声波处理种子技术已经用于小麦、玉米、油菜、国槐、锁阳及苏铁等多种作物与林木植物，可促进种子萌发、提高植物抗病性，以及提高产量^[3-7]。超声波处理水稻种子的研究报告较少，主要考察了超声波对种谷的刺激作用、种谷体内各种生理活性的改变，以及对水稻种子发芽、出苗及产量的影响，发现超声波处理能提高水稻种子活力、打破种子休眠、促进种子萌发及幼苗生长、增强种子的抗逆性以及提高产量^[2, 8-9]。可见，超声波处理水稻种子技术应用还很粗放，必须进一步掌握超声波对种谷本身

及其表面微生物的影响规律，优化处理方法。【本研究切入点】针对目前水稻种子超声波处理技术发展不足，不了解超声波对水稻种谷表面微生物影响的相关数据的前提下，本试验设置不同的超声波种谷处理方式，包括湿法与干法处理，以及使用不同的超声波频率，比较不同处理方式对种谷表面不同种类真菌与细菌的杀菌效果。【拟解决的关键问题】发现不同超声波处理方式对种谷表面不同种类微生物的影响规律，为种谷超声波处理技术最优化提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试水稻品种为象牙香占，种谷为广州市金稻农业科技有限公司贮藏的生产用种。超声波处理设备为 JD-50L 植物种子增产处理机（广州市金稻农业科技有限公司）。

1.2 试验方法

试验设超声波湿法 (T_{wet})、50 kHz 超声波干法 (T_{dry1}) 和 25 kHz 超声波干法 (T_{dry2}) 3 个处理。 T_{wet} 处理取种谷 2 kg 浸泡在 2 L 自来水中并用 25~50 kHz 变频超声波处理 30 min, T_{dry1} 处理将正常干燥种谷 2 kg 用 50 kHz 固定频率超声波处理 30 min, T_{dry2} 处理分别将正常干燥种谷 2 kg 用 25 kHz 固定频率超声波处理 30 min, 分别设湿法对照 (CK1) 与干法对照 (CK2), 3 次重复。

1.3 种谷表面微生物分离纯化

从上述处理与对照中分别取种谷 1 g, 置于 99 mL 0.05% 的吐温 -80 的溶液中, 摇匀, 静置 15 min, 取 0.1 mL 上清稀释于 99.9 mL 0.05% 吐温 -80 溶液中混匀为菌悬液。取 0.1 mL 上述菌悬液接种于 PDA 平板上 (90 mm × 15 mm 一次性培养皿, 海门市如意实验器材厂), 用三角棒均匀涂布, 每个处理 5 个平板, 25℃ 恒温培养箱中培养。48 h 后, 分离细菌, 用接种针挑取细菌菌落于 PDA 平板上划线继续纯化培养, 37℃ 恒温培养, 再用灭菌牙签挑取单菌落于装有 5 mL 液体 LB 的离心管里在 37℃ 的恒温振荡培养过夜, 离心后分离菌体, 可斜面与砂土管保藏。真菌纯化则在上述 PDA 平板培养 4~7 d 后, 用接种针挑取菌丝于 PDA 平板上, 待菌落纯化后斜面与砂土管保藏菌种, 备用。

1.4 菌种鉴定

1.4.1 形态学鉴定 将纯化后的菌种分别接种于 PDA 平板上, 恒温培养, 观察菌落颜色、形态与大小变化, 显微镜下观察测量细菌菌体及真菌的菌丝、孢子与产孢结构, 拍照记录。

1.4.2 分子生物学鉴定 细菌与真菌 DNA 的提取分别采用 Bacterial DNA Kit 与 HP Fungal DNA Kit 试剂盒 (Omega Bio-tek, Inc., USA)。细菌的 16S rDNA 序列扩增采用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3'), PCR 反应在 T100® Thermal Cycler PCR 仪 (Bio-Rad, USA) 上完成, 反应体系为 50 μL, 其中细菌基因组 DNA 2 μL, ddH₂O 19 μL, 2 × Power taq PCR MasterMix (广州擎科生物技术有限公司) 25 μL, 引物 27F 2 μL, 引物 1492R 2 μL。扩增程序: 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 45 s, 共 35 个循环; 72℃ 延伸 10 min。真菌 rDNA ITS 序列扩增采用通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), 所用仪器和 PCR 反应体系、程序与细菌相似, 只是 DNA 改为真菌基因组 DNA 2 μL, 引物 ITS1 2 μL, 引物 ITS4 2 μL。

PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 缓冲液为 1 × TAE, 电压 150 V, 电流 220 mA, Marker DL2000 作为分子量标准参照物。电泳结束后, 在

凝胶成像仪上面检测并拍照记录, 所得的特异性 PCR 产物 tvert 生工生物工程(上海)有限公司测序。将所测序列信息上传 Genbank 数据库, 取得登录号, 并在 NCBI 数据库中用 BLAST 搜索同源性较高的相关序列进行比对, 将序列相同度 ≥ 98% 定为同种菌株。

试验数据分析与绘图采用 Excel 2000 软件 (Microsoft Corporation, USA)。

2 结果与分析

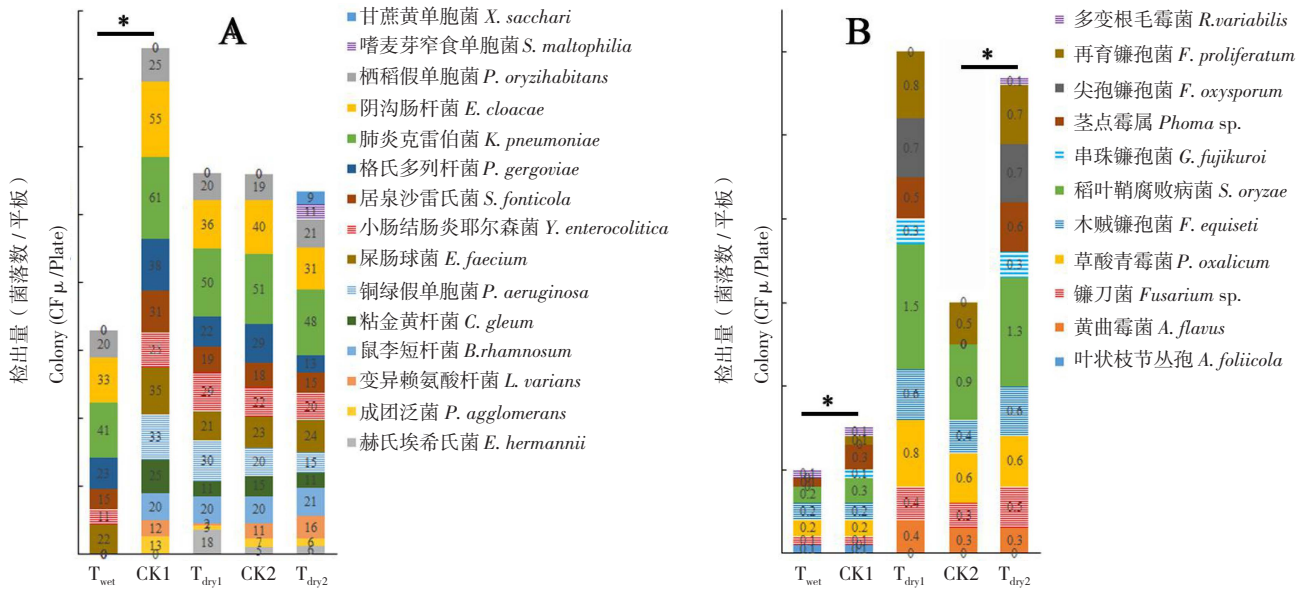
2.1 超声波处理对种谷表面微生物菌落数量的影响

不同方法的超声波处理对种谷表面的细菌与真菌的影响不同, 总体上, 超声波湿法处理比干法处理对微生物影响更显著, 而 50 kHz 超声波比 25 kHz 超声波处理影响较大。

由图 1A、图 2 可知, 超声波湿法处理 (T_{wet}) 可显著减少细菌的菌落数量, 处理组的细菌菌落数为 165 个/平板, 显著低于 CK1 的 373 个/平板, 而两种超声波干法处理 (T_{dry1} 和 T_{dry2}) 均不能减少细菌菌落数量。由图 1B、图 2 可知, 超声波湿法处理 (T_{wet}) 可显著减少真菌菌落数, 处理组的真菌菌落数为 1 个/平板, 显著低于 CK1 的 1.3 个/平板; 50 kHz 超声波干法处理 (T_{dry1}) 有真菌菌落 3 个/平板, 显著低于 CK2, 但 25 kHz 超声波干法处理 (T_{dry2}) 与 CK2 无显著差异。

2.2 超声波处理对种谷表面微生物种类的影响

从种谷表面分离纯化的细菌, 经形态学与分子生物学方法鉴定为 15 种 (表 1), 都不是已经报道过的植物病原菌, 检出最多的是肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumoniae*, 其次为阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae*, 它们在各个处理与对照中都有大量检出, 且差异不大 (图 1A, 表 1)。在湿法对照 (CK1) 中检出了 12 种细菌, 湿法处理中 (T_{wet}) 共检出 7 种细菌, 未检出铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*、粘金黄杆菌 *Chryseobacterium gleum*、鼠李糖短杆菌 *Brachybacterium rhamnsum*、变异赖氨酸杆菌 *Lysinibacillus varians* 与成团泛菌 *Pantoea agglomerans* 等 5 种在湿法对照 (CK1) 中出现的细菌 (图 1A)。从干法处理 (T_{dry1} , T_{dry2}) 与干法对照 (CK2) 中检出的细菌差异不大, 除了甘蔗黄单胞菌 *Xanthomonas sacchari* 和嗜麦芽窄食单

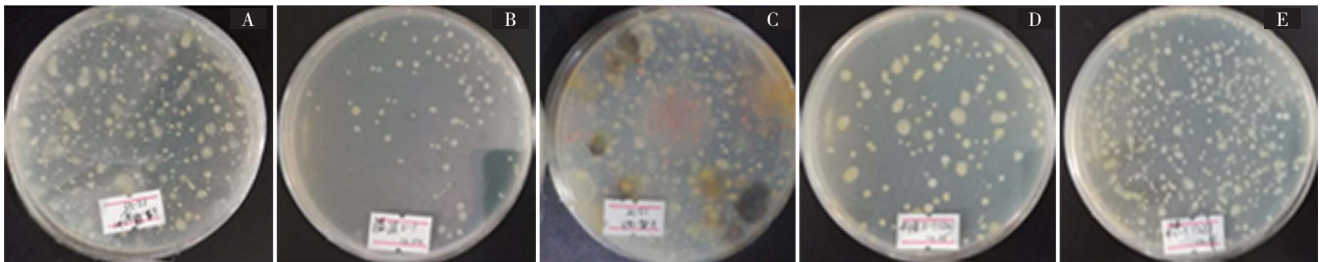


* 表示经 t 测验差异显著 (n = 15)

*represents the significant difference by T-test (n = 15)

图 1 种谷表面分离的细菌 (A) 与真菌 (B) 菌落数量

Fig.1 The number of bacterial colonies separated from the surface of rice



A: 湿法对照 (CK1); B: 湿法处理 (T_{wet}); C: 干法对照 (CK2); D: 50kHz 超声干法处理 (T_{dry1}); E: 25kHz 超声干法处理 (T_{dry2})

A: Control of wet seeds (CK1); B: Ultrasonic treatment of wet seeds (T_{wet}); C: Control of dry seeds (CK2);

D: 50 kHz ultrasonic treatment of dry seeds (T_{dry1}); E: 25 kHz ultrasonic treatment of dry seeds (T_{dry2})

图 2 PDA 平板上的微生物菌落

Fig. 2 Microbial colonies in PDA plates

胞菌 *Stenotrophomonas maltophilia* 只在干法对照中出现的 2 种外, 其他种类在干法处理中都有检出 (图 1A, 表 1)。

从稻谷表面检测到 11 种真菌 (表 2), 以稻叶鞘腐败病菌 *Sarocladium oryzae* 的检出率最高, 其次为草酸青霉菌 *Penicillium oxalicum*, 它们在各个处理与对照中都被检出 (图 1B)。在湿法对照 (CK1) 中检出 9 种真菌菌, 湿法处理中 (T_{wet}) 检出 7 种真菌, 未检出再育镰孢菌 *Fusarium proliferatum* 与串珠镰孢菌 *Gibberella fujikuroi* 等 2 种在湿法对照 (CK1) 中出现的真菌 (表 2, 图 1B)。从干法对照 (CK2) 中检出 10 种真菌, 50 kHz (T_{dry1}) 与 25 kHz (T_{dry2}) 2 个干

法处理中分别检出 9 种与 6 种真菌, 但 50 kHz 干法处理 (T_{dry1}) 未检出干法对照 (CK2) 中出现的多变根毛霉菌 *Rhizomucor variabilis*、尖孢镰孢菌 *Fusarium oxysporum*、茎点霉 *Phoma* sp. 与串珠镰孢菌 *Gibberella fujikuroi* 等 4 种真菌 (表 2, 图 1B)。

3 讨论

水稻芽期与苗期是比较脆弱的生育期, 容易受到不良环境及有害生物的侵袭, 种子带菌是传播恶苗病、绵腐病、立枯病、稻瘟病、稻曲病等病害的主要途径, 因此, 发展种子处理技术是提高种谷发芽率以及培育壮苗壮秧的关键环节 [1]。

表 1 种谷表面的细菌种类
Table 1 Bacterial species on the Surfaces of Rice seeds

菌种 Bacterial	菌株编号 Strain No.			Gene Bank ID				检测结果 Test result				
								Twet	CK1	Tdry1	Tdry2	CK2
甘蔗黄单胞菌 <i>Xanthomonas sacchari</i>	XS-01			MH767035				无	无	无	无	+
嗜麦芽窄食单胞菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	SM-01			MH767078				无	无	无	无	+
栖稻假单胞菌 <i>Pseudomonas oryzae</i>	PO-01			MH767067				+	+	+	无	++
阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>	EC-01	EC-02	EC-03	MH767079	MH767077	MH767072	MH767069	+	+	+	+	++
	EC-04	EC-05	EC-06	MH767068	MH767066	MH767063	MH767062					
	EC-07	EC-08	EC-09	MH767057	MH767047	MH767041	MH767029					
	EC-10	EC-11	EC-12	MH767028	MH767027							
	EC-13	EC-14										
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	KP-01	KP-02	KP-03	MH767067	MH767065	MH767064	MH767061	++	++	++	+++	++
	KP-04	KP-05	KP-06	MH767059	MH767056	MH767055	MH767054					
	KP-07	KP-08	KP-09	MH767052	MH767050	MH767049	MH767045					
	KP-10	KP-11	KP-12	MH767044	MH767043	MH767042	MH767048					
	KP-13	KP-14	KP-15	MH767032								
	KP-16	KP-17										
格氏多列杆菌 <i>Pluralibacter gergoviae</i>	PG-01			MH767076				+	+	无	无	无
刚毛沙雷氏菌 <i>Serratia fonticola</i>	SF-01	SF-02	SF-03	MH767073	MH767070	MH767033		+	+	+	+	无
小肠结肠炎耶尔森菌 <i>Yersinia enterocolitica</i>	YE-01	YE-02	YE-03	MH767040	MH767036	MH767026	MH767025	+	无	无	无	无
尿肠球菌 <i>Enterococcus faecium</i>	EF-01			MH767031				+	无	无	无	无
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA-01			MH767074				无	无	+	无	无
粘金黄杆菌 <i>Chryseobacterium gleum</i>	CG-01			MH767060				无	无	+	无	无
鼠李短杆菌 <i>Brachybacterium rhamnosum</i>	BR-01			MH767058				无	无	+	无	无
变异赖氨酸杆菌 <i>Lysinibacillus varians</i>	LV-01			MH767046				无	无	无	+	无
赫氏埃希氏菌 <i>Escherichia hermannii</i>	EH-01			MH767051				无	无	+	无	无
成团泛菌 <i>Pantoea agglomerans</i>	PA-01			MH767053				无	无	+	无	无

注: + 表示该菌在该处理中的丰度, +++ 表示含量 > 50%, ++ 表示含量为 20%~50%, + 表示含量 < 20%, 无表示含量为 0。

Note: + represents the abundance of the bacteria in the treatment, +++ represents the content more than 50%, ++ represents the content in 20%~50%, + represents the content less than 20%, and nothing represents that the content is 0.

表 2 种谷表面的真菌种类

Table 2 Fungal species on the Surfaces of Rice seeds

菌种 Bacterial	菌株编号 Strain number	Genebank ID	检测结果 Test result				
			Twet	CK1	Tdry1	Tdry2	CK2
多变根毛霉菌 <i>Rhizomucor variabilis</i>	RV-01	MH766398	无	无	无	无	++
茎点霉属 <i>Phoma sp.</i>	PS-01	MH766396	无	无	无	无	+
尖孢镰孢菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	FO-01	MH766397	无	无	无	无	+
串珠镰孢菌 <i>Gibberella fujikuroi</i>	GF-01	MH766395	无	无	无	无	+
再育镰孢菌 <i>Fusarium proliferatum</i>	FP-01, FP-02	MH766394, MH766393	无	无	+	无	++
黄曲霉菌 <i>Aspergillus flavus</i>	AF-01	MH766392	无	无	无	+	无
木贼镰孢菌 <i>Fusarium equiseti</i>	FE-01, FE-02	MH766400, MH766399	无	+++	无	无	无
叶状枝节丛孢 <i>Arthrotrys foliicola</i>	AF-02	MH766391	无	无	无	+	无
稻叶鞘腐败病菌 <i>Sarocladium oryzae</i>	SO-01, SO-02, SO-03, SO-04, SO-05, SO-06	MH766390, MH766389, MH766388, MH766387, MH766386, MH766385	++	++	++	无	+
草酸青霉菌 <i>Penicillium oxalicum</i>	PO-01, PO-02, PO-03	MH766384, MH766383, MH766382	无	无	++	无	无
镰刀菌 <i>Fusarium sp.</i>	FS-01, FS-02	MH766381, MH766380	无	无	+	无	无

注: + 表示该菌在该处理中的丰度, +++ 表示含量 > 50%, ++ 表示含量为 20%~50%, + 表示含量 < 20%, 无表示含量为 0。

Note: + represents the abundance of the fungi in the treatment, +++ represents the content more than 50%, ++ represents the content in 20%~50%, + represents the content less than 20%, and nothing represents that the content is 0.

本研究表明, 超声波处理种谷可以杀灭其表面细菌与真菌, 但杀菌效果与处理方式有关, 湿法处理比干法处理效果好, 这可能是由于在湿法处理时水被超声空化, 形成瞬时局部的高温和高压, 达到杀菌效果; 干法处理时 50 kHz 超声波比 25 kHz 超声波杀菌效果好, 这是由于 25 kHz 超声波干法处理的能量不足, 导致其杀菌效果不如 50 kHz 超声波干法处理, 这与制糖工艺中的超声波杀菌原理相似, 杀菌效果与超声波的频率、强度及处理介质相关。为了进一步提高超声波处理种谷的杀菌效果, 应该以湿法处理为基础, 进一步优化超声波频率与强度以及水分与温度控制等条件, 达到最好的杀菌效果。

本研究鉴定的种谷表面真菌种类与刘西

丽等^[10]的研究结果大体上一致。许多植物病原真菌如镰刀菌属的一些种类, 包括再育镰刀菌 *Fusarium proliferatum*、尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*、串珠镰刀菌 *Fusarium moniliforme* 及木贼镰刀菌 *Fusarium equiseti* 等, 它们都是水稻立枯病的病原菌^[11], 还有尚未鉴定种的茎点霉属 *Phoma sp.* 和镰刀菌 *Fusarium sp.* 也可能是植物致病菌。超声波对上述病菌都有一定杀菌作用, 这些种传病原的减少可有效减少水稻芽期与幼苗期病害, 促进水稻壮秧壮苗。其中, 多变根毛霉菌 *Rhizomucor variabilis* 被超声波显著抑制, 但该菌多见于机会引起人和动物皮质感染^[12], 而它与水稻的互作关系未见研究报导; *Sarocladium oryzae* 是水稻叶鞘腐败病的病原菌, 影响水稻

结实,降低稻谷产量与米质^[13]。另外4种真菌,即木贼镰孢菌 *Fusarium equiseti*、草酸青霉菌 *Penicillium oxalicum*、黄曲霉菌 *Aspergillus flavus* 和节菱孢霉菌 *Arthrotrichum foliicola*, 超声波杀菌效果不显著,可能是由于其丰度相对较高。

本研究检测到的细菌中,只见植物病原菌甘蔗黄单胞菌 *Xanthomonas sacchari* 报道,可引起甘蔗叶片褪绿条纹病 (*Leaf Chlorotic Streak Disease*)^[14], 但该菌也可能是一种内生菌,并且从水稻上分离了该菌的一个菌株,对一些病原菌有拮抗作用,具有作为生防菌的潜力^[15-16], 超声波处理对该菌具有杀菌效果,但其对水稻生长发育有何效应需要进一步研究。其他被检测到的细菌均非植物病原菌,而多为人的条件性致病菌(当人体免疫力低下时可能被感染),如假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*、粘金黄杆菌 *Chryseobacterium gleum*、成团泛菌 *Pantoea agglomerans*、嗜麦芽窄食单胞菌 *Stenotrophomonas maltophilia*、栖稻假单胞菌 *Pseudomonas oryzae* (栖稻黄单胞菌 *Flavimonas oryzae*)、阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae*、肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumoniae*、格氏多列杆菌 *Pluralibacter gergoviae* 及居泉沙雷氏菌 *Serratia fonticola* 等都属于此类细菌^[17-20]。超声波对前5种有杀菌作用,但对其余的杀菌效果较差,这可能是由于后者的丰度较高,阴沟肠杆菌、肺炎克雷伯菌、及居泉沙雷氏菌等都有很高的分离率。另外2种菌(鼠李糖短杆菌 *Brachybacterium rhamnosum* 和变异赖氨酸杆菌 *Lysinibacillus varians*)目前未见该菌对人有致病性的研究报道,超声波对其杀菌效果也比较好,可能也与其丰度较低有关。

4 结论

超声波处理对种谷有杀菌作用,但杀菌效果与超声波处理方式及微生物种类及其丰度有关。总体上,超声波湿法处理 (T_{wet}) 优于干法处理,而 50 kHz 超声波干法处理 (T_{dry1}) 优于 25 kHz 超声波干法处理 (T_{dry2})。本研究检测到的 15 种种谷表面细菌中,仅甘蔗黄单胞菌 *Xanthomonas sacchari* 是植物病原菌,其他大多为条件性人的致病菌。超声波对甘蔗黄单胞菌 *Xanthomonas sacchari*、假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*、粘金

黄杆菌 *Chryseobacterium gleum*、成团泛菌 *Pantoea agglomerans*、嗜麦芽窄食单胞菌 *Stenotrophomonas maltophilia* 等丰度较低的细菌杀菌效果较好,但对阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae* 和肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumoniae* 等丰度较高的细菌杀菌效果较差;检测到的 11 种真菌中许多是植物病原菌,超声波对层生镰刀菌 *Fusarium proliferatum*、尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*、串珠镰刀菌 *Fusarium moniliforme*, 木贼镰刀菌 *Fusarium equiseti* 与茎点霉菌 *Phoma sp.* 等杀菌效果较好,而对稻叶鞘腐败病菌 *Sarocladium oryzae* 及草酸青霉菌 *Penicillium oxalicum* 等杀菌效果不显著,可能是由于后者丰度太高所致杀菌效果偏低。超声波处理对种谷表面的植物病原菌杀菌作用可能是其促进水稻壮秧壮苗增产的原因。本研究结果可指导超声波种谷处理技术的进一步优化研究,促进该技术在种子处理中的发展与应用。

参考文献 (References) :

- [1] 闵红, 李好海, 赵利民. 河南省种子处理技术的发展及展望 [J]. 中国植保导刊, 2019, 39(2): 92-94.
MING H, LI H H, ZHAO L M. Development and prospect of seed processing technology in Henan Province [J]. *China Plant Protection*, 2019, 39(2):92-94.
- [2] 袁经天, 严锦璇, 汪德锋, 曹明, 柯用春. 超声波处理对水稻种子萌发、产量及产量构成的影响 [J]. 中国稻米, 2014 (2):53-55.
YUAN J T, YAN J X, WANG D F, CAO M, KE Y C. Effects of ultrasound treatment on germination, yield and yield composition of rice seeds [J]. *China Rice*, 2014(2):53-55.
- [3] 肖宜安, 李化茂, 冯若. 超声辐照对苏铁种子萌发的影响 [J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(4): 293. doi:10.13592/j.cnki.ppj.1999.04.009.
XIAO Y A, LI H M, FENG R. Effect of ultrasound irradiation on cycad seed germination [J]. *Plant Physiological Communication*, 1999, 35(4):293. doi:10.13592/j.cnki.ppj.1999.04.009.
- [4] 袁晓兰. 超声处理对冬小麦生长发育和增产的研究总结 [J]. 陕西师范大学学报 (自然科学版), 1978(1): 83-93. doi:10.15983/j.cnki.jsnu.1978.01.007.
YUAN W L. Summary of research on growth and yield increase of winter wheat by ultrasound treatment [J]. *Journal of Shaanxi Normal University (Natural Science Edition)*, 1978(1): 83-93. doi:10.15983/j.cnki.jsnu.1978.01.007.
- [5] 武睿, 郭晔红, 萧明明, 郭云云, 袁佩举. 超声波处理对锁阳种子萌发特性影响研究 [J]. 甘肃农业大学学报, 2010, 45(6): 122-124. doi:10.39669/j.issn.1003-4315.2010.06.017.
WU R, GUO Y H, XIAO M M, GUO Y Y, YUAN P J. Study on the effect of ultrasound treatment on germination characteristics of *Cynomorium songaricum* seeds [J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2010,

- 45(6):122-124. doi:10.3969/j.issn.1003-4315.2010.06.017.
- [6] 赵燕, 杨青松, 王莹, 陈毅坚, 罗万玲, 刘云华. 不同时间超声波处理对油菜种子萌发的影响[J]. 种子, 2012, 31(10): 90-92. doi:10.3969/j.issn.1001-4705.2012.10.025.
- ZHAO Y, YANG Q S, WANG Y, CHEN Y J, LUO W L, LIU Y H. Effects of different time ultrasound treatment on seed germination of rapeseed [J]. *Seeds*, 2012, 31(10):90-92. doi:10.3969/j.issn.1001-4705.2012.10.025.
- [7] 林海. 国槐种子超声波处理效应研究[J]. 北方园艺, 2011(20): 51-54.
- LIN, H.. Study on the effect of *Sophora japonica* seeds treated by ultrasound [J]. *Northern Horticulture*, 2011(20):51-54.
- [8] 杨葵. 超声波技术试验增产效果明显[J]. 现代农业装备, 2017(4): 75.
- YANG K. The effect of increasing production by ultrasonic technology test is obvious [J]. *Modern Agricultural Equipment*, 2017(4):75.
- [9] 张思聪, 孔雷蕾, 唐湘如. 超声波预处理对作物种子及幼苗的影响综述[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(21): 11-12. doi:10.13989/j.cnki.0517-6611.2017.21.005.
- ZHANG S C, KONG L L, TANG X R. Summary of the effects of ultrasound pretreatment on crop seeds and seedlings [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45(21):11-12. doi:10.13989/j.cnki.0517-6611.2017.21.005.
- [10] 刘西莉, 李健强, 朱春雨, 张国珍, 张龙, 罗军, 李小林, 朱建军, 房双龙. 不同水稻品种种子带菌检测及药剂消毒处理效果[J]. 中国农业大学学报, 2000(5): 42-47. doi:10.3321/j.issn:1007-4333.2000.05.008.
- LIU X L, LI J Q, ZHU C Y, ZHANG G Z, ZHANG L, LUO J, LI X L, ZHU J J, FANG S L. Detection of bacteria in seeds of different rice varieties and effect of disinfection with drugs [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2000(5):42-47. doi:10.3321/j.issn:1007-4333.2000.05.008.
- [11] 刘焯, 赵兴红, 韩雨桐, 张琳琳, 张俊华. 黑龙江省水稻立枯病病原鉴定及致病性研究[J]. 吉林农业科学, 2015, 40(5): 75-78, 84. doi:10.16423/j.cnki.1003-8701.2015.05.019.
- LIU Y, ZHAO X H, HAN Y T, ZHANG L L, ZHANG J H. Identification and pathogenicity of rice standing blight in Heilongjiang Province [J]. *Jilin Agricultural Science*, 2015, 40(5):75-78,84. doi:10.16423/j.cnki.1003-8701.2015.05.019.
- [12] 尚毅, 方伟, 廖万清. 中国多变根毛霉感染性皮肤病联合菌病13例回顾性分析[J]. 中国真菌学杂志, 2013, 8(1): 30-34. doi:10.3969/j.issn.1673-3827.2013.01.007.
- SHANG Y, FANG W, LIAO W Q. Retrospective analysis of 13 cases of infectious dermatconjunctivitis caused by *Rhizopus multiformis* in China [J]. *Chinese Journal of Mycology*, 2013, 8(1):30-34. doi:10.3969/j.issn.1673-3827.2013.01.007.
- [13] 罗宽, 廖小兰, 陈寅. 水稻褐鞘病研究 V. 稻褐鞘病菌与其它病原的关系[J]. 湖南农学院学报, 1991(3): 471-476. doi:10.13331/j.cnki.jhau.1991.03.008.
- LUO K, LIAO X L, CHEN Z. Studies on rice brown sheath v. relationship between brown sheath fungi and other pathogens [J]. *Journal of Hunan Agricultural College*, 1991 (3):471-476. doi:10.13331/j.cnki.jhau.1991.03.008.
- [14] ZHANG R Y, SHAN H L, LI W F, WANG X Y, YIN J, LUO Z M, HUANG Y K. First report of sugarcane leaf chlorotic streak disease caused by *Xanthomonas sacchari* in Guangxi, China [J]. *Plant Disease*, 2017, 101(8):1541-1542. doi:10.1094/PDIS-12-16-1774-PDN.
- [15] MAROON L C J, SCHNEIDER K L, TURNER R. S, PRESTING G G, ALVAREZ A M. *Xanthomonas sacchari* - a pathogen or an endophyte [J]. *Phytopathology*, 2010, 100(6):S78.
- [16] FANG X Y, LIN H Y, WU L W, REN D Y, YE W J, DONG G J, ZHU L, GUO L B. Genome sequence of *Xanthomonas sacchari* R1, a biocontrol bacterium isolated from the rice seed [J]. *Journal of Biotechnology*, 2015, 206:77-78. doi:10.1016/j.jbiotec.2015.04.014.
- [17] 唐敏, 李丽, 肖蓉. 嗜麦芽寡养单胞菌胞外蛋白酶功能研究进展[J]. 微生物学报, 2016, 56(5): 731-739. doi:10.13343/j.cnki.wsbx.20150289.
- TANG M, LI L, XIAO R. Research progress on extracellular protease function of *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 56(5):731-739. doi:10.13343/j.cnki.wsbx.20150289.
- [18] NEI T, SONOBE K, ONODERA A, ITABASHI T, YAMAGUCHI H, MAEDA M, SAITO R. Two cases with bacteremia suspected to be due to relatively rare *Pseudomonas (Flavimonas) oryzihabitans* [J]. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2015, 21(10): 751-755. doi:10.1016/j.jiac.2015.06.005.
- [19] TENA D, FEMANDEZ C. *Pseudomonas oryzihabitans*: an unusual cause of skin and soft tissue infection [J]. *Infectious Diseases*, 2015, 47(11):820-824. doi:10.3109/2374423.2015.1034170.
- [20] 冯婷婷, 王佳贺. 阴沟肠杆菌感染与耐药机制的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(10): 933-937. doi:10.3969/j.issn.1002-2694.2017.10.018.
- FENG T T, WANG J H. Advances in the study of *Enterobacter cloacae* infection and drug resistance mechanisms [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2017, 33(10):933-937. doi:10.3969/j.issn.1002-2694.2017.10.018.

(责任编辑 邹移光)