

# 土壤中马铃薯粉痂病菌的简易检测方法

惠娜娜 李继平\* 王立 马永强 李建军 周天旺 李青青

(甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃兰州 730070)

**摘要:** 通过番茄幼苗诱饵法检测马铃薯茬土壤和蚕豆田土壤中的马铃薯粉痂病菌繁殖体。结果表明: 马铃薯茬口的土壤中含有粉痂病菌繁殖体, 其土壤培育的番茄苗植株不同程度的矮化, 根系肿大、有瘤状物, 镜检为马铃薯粉痂病菌休眠孢子囊; 一年茬、两年茬、三年茬土壤培育的番茄粉痂病病株率分别为 82.35%、100.00%、100.00%, 而蚕豆茬土壤培育的番茄苗生长正常, 镜检未发现粉痂病菌。

**关键词:** 土壤; 番茄; 马铃薯粉痂病菌; 检测

**中图分类号:** S532 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6346 (2012) 10-0080-03

## A Simple Method for Detecting *Spongospora subterranea* in Soil

HUI Na-na, LI Ji-ping\*, WANG Li, MA Yong-qiang, LI Jian-jun, ZHOU Tian-wang, LI Qing-qing  
(Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, Gansu, China)

**Abstract:** This experiment is to detect *Spongospora subterranea* in soil of potato cropping and broad bean cropping, using tomato seedlings as bait plants. The results showed that there were *Spongospora subterranea* with soil of potato cropping. Using this soil to cultivate tomato would cause tomato plant becoming dwarf at different degree, its root being swollen and with tumor shapes in root. The disease breaking rates of tomato plants grown in one year, two years and three years potato cropping stubble soil were 82.35%, 100.00%, 100.00%, respectively. However, tomato plants were normal in broad bean cropping soil, the resting spores of *Spongospora subterranea* were not found in roots.

**Key words:** Soil; Tomato; *Spongospora subterranea*; Detect

马铃薯粉痂病是由马铃薯粉痂菌 (*Spongospora subterranean*) 引起的真菌性病害, 世界上许多地区都有发生。我国内蒙古、广东、贵州、江西、浙江、云南等地均有报道, 20 世纪 60 年代甘肃省陇南市也发现了马铃薯粉痂病。笔者 2008 ~ 2011 年在渭源县会川试验田收获期马铃薯块茎调查中发现, 一般田块马铃薯粉痂病病薯率在 5% ~ 20%, 重病田病薯率在 90% 以上。由于马铃薯粉痂病主要是土壤带菌, 土壤中病菌的检测和定量成为解决这一病害的首要问题。国外对马铃薯粉痂病菌的检测研究较多, Flett (1983) 提出了以番茄幼苗作为诱饵检测土壤中的马铃薯粉痂病菌, 随后 Merz (1989)、Wale 等 (1993) 也报道了番茄诱饵法, 这种方法非常灵敏, 微量的土壤就可检出。国内对马铃薯粉痂病菌检测研究较少, 本试验利用番茄幼苗对土壤中马铃薯粉痂病菌情况进行了检测, 以期为该病害的防治提供依据。

收稿日期: 2011-11-29; 接受日期: 2011-12-30

基金项目: 兰州市科技计划项目 (07-1-09), 马铃薯现代产业技术体系专项

作者简介: 惠娜娜, 女, 助理研究员, 主要从事植物病害方面的研究, E-mail: huinana@126.com

\* 通讯作者 (Corresponding author): 李继平, 男, 研究员, 主要从事植物病害方面的研究, E-mail: gsljip@163.com

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 品种为阳光 908, 市售。乳酚油: 苯酚结晶 (加热融化) 20 mL、乳酸 20 mL、甘油 40 mL、水 20 mL。酸性品红: 高级纯 70%。

### 1.2 试验设计

试验在甘肃省定西市渭源县会川镇进行, 位于甘肃省中部, 海拔 2 300 m 左右, 气候阴湿, 昼夜温差大, 年平均气温 4.7 °C, 年降水量 650 mm, 无霜期 130 d 左右。试验地为半阴坡地, 土壤为黑麻垆土, 肥力中等。

试验共设 4 个处理 (表 1), 每处理 3 次重复。

表 1 试验设计

茬口	处理方法	粉痂病调查
空茬 (蚕豆茬)	2009 年马铃薯—2010 年蚕豆	2009 年 10 月块茎有粉痂病
一年茬	2009 年蚕豆—2010 年马铃薯	2010 年 10 月块茎有粉痂病
两年茬	2009 年马铃薯—2010 年马铃薯	2010 年 10 月块茎有粉痂病
三年茬	2008 年马铃薯—2009 年马铃薯—2010 年马铃薯	2010 年 10 月块茎有粉痂病

### 1.3 土壤样品的采集

采用五点采样法, 于 2011 年 4 月上旬在每个试验小区采集 0~10 cm 越冬土壤, 装入布袋子, 编号, 将土样带回实验室混匀备用。将采集的土壤倒入钢盘, 压平, 挑出石子, 筛平划对角线, 取对角的两部分土, 继续筛平, 再取对角线的两部分土, 重复多次后, 混匀筛平称取 1 g 干土, 其余的土壤装起来放入冰箱备用。

### 1.4 番茄幼苗诱饵法

1 g 土壤加入到 1 000 mL 0.3% 的水琼脂中配成土壤液。将培育 50 d 的健康番茄幼苗移栽到装有灭菌蛭石的育苗钵中, 每株番茄幼苗加 10 mL 土壤液, 每个处理 20 株, 室温下培育, 7 d 浇 1 次营养液, 30 d 左右检查番茄根系, 镜检 (Flett, 1983)。

## 2 结果与分析

### 2.1 马铃薯重茬土壤中的粉痂病菌

利用番茄幼苗检查马铃薯一年茬及空茬 (蚕豆茬) 0~10 cm 土壤中马铃薯粉痂病菌, 结果发现: 蚕豆茬土壤培育的番茄苗植株生长正常, 根系未见瘤状物, 显微镜镜检未发现粉痂病菌休眠孢子囊; 一年茬土壤培育的番茄苗植株生长不整齐, 植株矮化, 根系肿大 (图 1-a), 显微镜下镜检发现粉痂病菌休眠孢子囊 (图 1-b)。

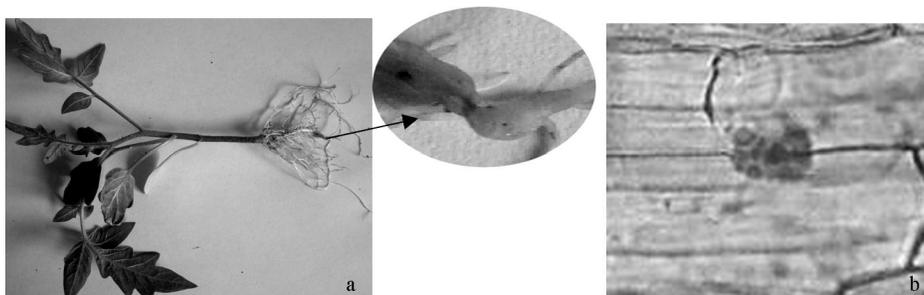


图 1 粉痂病菌侵染番茄根系症状及根系组织中粉痂病菌休眠孢子囊

a, 粉痂病菌侵染番茄根系; b, 根系中粉痂病菌休眠孢子囊。

## 2.2 马铃薯重茬土壤中的番茄粉痂病病株率

马铃薯一年茬、两年茬、三年茬土壤培育的番茄苗, 植株有不同程度的矮化, 根系肿大、有瘤状物, 番茄粉痂病病株率分别为 82.35%、100.00%、100.00% (表 2)。

表 2 马铃薯重茬土壤中番茄粉痂病病株率

茬口	番茄总株数/株	发病株数/株	病株率/%
空茬 (蚕豆茬)	20	0	0
一年茬	17	14	82.35
两年茬	20	20	100.00
三年茬	20	20	100.00

## 3 结论与讨论

国外对粉痂病菌的研究较多, 土壤带菌量的检测方法已经从 20 世纪 90 年代的诱饵法到 ELISA 法 (Harrison et al., 1994; Wallace et al., 1995), 到现在的 PCR 技术 (Bell, 1998; Qu et al., 2000; van de Graaf et al., 2003), 定量检测土壤中粉痂病菌既快速又精确。国内对马铃薯粉痂病菌的研究较少, 主要集中在病害的发生与防治方面 (杨艳丽 等, 2007; 余光海 等, 2008)。惠娜娜等 (2009) 对马铃薯粉痂病原菌及其在甘肃省会川的发生情况作了报道。本试验以番茄幼苗作为诱饵, 检测马铃薯重茬土壤中的粉痂病菌, 结果发现土壤中粉痂病菌繁殖体与连作年限有关。但由于番茄幼苗诱饵法只能检测到土壤中粉痂病菌活的游动孢子, 对休眠孢子无法检测到, 所以还不能完全代表土壤中粉痂病菌繁殖体的数量, 对于连作土壤中粉痂病菌的定量检测和总体数量变化有待进一步研究。

### 参考文献

- 惠娜娜, 李继平, 李建军, 王立, 李青青. 2009. 甘肃省马铃薯窖藏期粉痂病的初步调查. 中国蔬菜, (21): 24-25.
- 杨艳丽, 王利亚, 罗文富, 孙茂林, 刘霞. 2007. 马铃薯粉痂病综合防治技术初探. 植物保护, 33 (3): 118-121.
- 余光海, 黄吉会, 付照聪, 朱大权, 王莲存, 葛林钦, 龙坤元. 2008. 云南省会泽县马铃薯粉痂病发生情况调查分析初报. 中国植保导刊, (11): 21-22.
- Bell K. 1998. Detection and quantification of *Spongospora subterranea* f. sp. subterranea by specific DNA amplification. ICPP98: www.bspp.org.uk/icpp98/abstracts/6/57.html.
- Flett S P. 1983. A technique for detection of *Spongospora subterranean* in soil. Transactions of the British Mycological Society, 81: 424-425.
- Harrison J G, Lowe R, Wallace A, Williams N A. 1994. Detection of *Spongospora subterranea* by ELISA using monoclonal antibodies//Schots A, Dewey F M, Oliver R. Modern assays for plant pathogenic fungi: identification, detection and quantification. Wallingford: CAB International: 23-27.
- Merz U. 1989. Infectivity, inoculum density and germination of *Spongospora subterranea* resting spores: a solution-culture test system. European Plant Protection Organisation Bulletin, 19: 585-592.
- Qu X S, Kavanagh J A, Egan D. 2000. Quantification of the fungal cause of potato powdery scab in soil using a competitive polymerase chain reaction assay//Gray J S, Foley K, Monahan F J, O'Mara F P, Ruane D J, Ward S M. Research report 1998-1999, faculty of agriculture. Ireland: University College Dublin: 74-76.
- van de Graaf P, Lees A K, Cullen D W, Duncan J M. 2003. Detection and quantification of *Spongospora subterranea* in soil, water and plant tissue samples using real-time PCR. European Journal of Plant Pathology, 109: 589-597.
- Wale S J, Burgess P J, Burnett F. 1993. Bioassay for *Spongospora subterranea* detection in soil and its potential use in predicting powdery scab in the field. Abstracts of the 6th International Congress of Plant Pathology. Montreal.
- Wallace A, Williams N A, Lowe R, Harrison J G. 1995. Detection of *Spongospora subterranea* using monoclonal antibodies in ELISA. Plant Pathology, 44: 355-365.