

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2019)04-0227-10

病虫害防治

中国马铃薯病虫害检测技术标准解析

范国权^{1*}, 白艳菊¹, 高艳玲¹, 张威¹, 张抒¹,
申宇¹, 邱彩玲¹, 胡林双¹, 孙妍², 喻江³

(1. 黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086;

2. 农业农村部工程建设服务中心, 北京 100000; 3. 哈尔滨商业大学, 黑龙江 哈尔滨 150028)

摘要: 在马铃薯生产加工过程中, 病虫害严重危害马铃薯的产量和质量。通过有效的技术检测可以提前预测病害发生情况, 有效地控制和预防病害的发展, 降低损失, 保障效益。对病虫害检测方面28个现行有效的国家标准和行业标准进行梳理, 结合标准中的检测技术, 针对不同病害特点, 解析病害最适用的检测手段, 以便为生产中马铃薯病虫害检测工作提供指导。

关键词: 马铃薯; 病虫害; 标准; 检测技术

Analysis of Technical Standards for Detection of Potato Diseases and Insect Pests in China

FAN Guoquan^{1*}, BAI Yanju¹, GAO Yanling¹, ZHANG Wei¹, ZHANG Shu¹,
SHEN Yu¹, QIU Cailing¹, HU Linshuang¹, SUN Yan², YU Jiang³

(1. Research Institute of Virus-free Seedling, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086, China;

2. Agriculture Engineering Construction Service Center, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, Beijing 100000, China; 3. Harbin University of Commerce, Harbin, Heilongjiang 150028, China)

Abstract: Potato diseases and insect pests seriously influence the quantities and qualities of potato during the process of production and processing. By using the effective technical testing, the status of diseases and insect pests could be predicted in advance, and then the developments of the diseases and insect pests controlled, therefore, the losses are decreased and the benefits protected. Here, the existing 28 national and industrial standards of the inspection of potato diseases and insect pests were combed through, and the most suitable inspection methods analyzed based on the methods used in those standards and the features of each disease, which could provide helpful supports for the inspection of potato diseases and insect pests during the process of potato production and processing.

Key Words: potato; disease and insect pest; standard; detection technology

收稿日期: 2018-08-10

基金项目: 黑龙江省科研机构创新能力提升专项计划(YC2015D003); 哈尔滨市应用技术与开发项目(青年后备人才)(2015RQQYJ031); 黑龙江省经济作物体系(HNWJZTX201701); 黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所课题(2017SJ009); 黑龙江省应用技术与开发计划重大资助项目(GA16B102)。

作者简介: 范国权(1982-), 男, 助理研究员, 从事马铃薯种薯质量控制及病害检测。

***通信作者(Corresponding author):** 范国权, E-mail: fgq_520@126.com。

马铃薯是一种营养体无性繁殖植物, 植株和块茎都易感病, 侵染马铃薯的病虫害有几十种, 主要包括真菌、细菌、病毒、类病毒、甲虫、线虫等。这些病虫害可以随种薯传播, 其中, 细菌、病毒和类病毒病害还可以通过种苗传播, 造成病害大面积扩散, 严重影响马铃薯的产量和质量。病虫害一般可造成马铃薯减产10%~30%, 严重情况下减产可达70%以上, 是影响马铃薯产业发展的瓶颈之一。因此, 在马铃薯生产中病虫害检测工作极为重要, 及时发现并确认病虫害, 有利于其有效防控, 可以防止大面积扩散, 降低产量和质量损失。

现有28个病虫害检测标准, 其中涉及马铃薯细菌检测标准4个, 病毒检测标准10个, 类病毒检测标准4个, 真菌检测标准7个, 甲虫检测标准1个和线虫检测标准2个。从检测病虫害种类看, 可检测病虫害包括细菌性病害青枯病[*Ralstonia solanacearum* (Smith)]和环腐病(*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*); 病毒病有马铃薯卷叶病毒(Potato leaf roll virus, PLRV)、马铃薯Y病毒(Potato virus Y, PVY)、马铃薯X病毒(Potato virus X, PVX)、马铃薯A病毒(Potato virus A, PVA)、马铃薯M病毒(Potato virus M, PVM)、马铃薯S病毒(Potato virus S, PVS)、马铃薯V病毒(Potato virus V, PVV)、马铃薯帚顶病毒(Potato mop-top virus, PMTV)和马铃薯黄化矮缩病毒(Potato yellow dwarf virus, PYDV); 类病毒有马铃薯纺锤块茎类病毒(Potato spindle tuber viroid, PSTVd); 真菌病害包括马铃薯银屑病(*Helminthosporium solani* Durieu et Mont.)、马铃薯黑粉病[*Thecaphora solani* (Thirumalachar & O. Brien) Mordue]、马铃薯坏疽病(*Phoma exigua* var. *foveata*)、马铃薯绯腐病(*Phytophthora erythroseptica* Pethybridge)、马铃薯炭疽病[*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes]、马铃薯皮斑病[*Polyscytalum pustulans* (M. N. Owen et Wakef.) M. B. Ellis]和马铃薯癌肿病[*Synchytrium endobioticum* (Schilberszky) Percival]; 马铃薯甲虫(Colorado potato beetle) [Leptinotarsa decemlineata (Say)]; 线虫包括马铃薯白线虫(White potato cyst nematode) [*Globodera pallida* (Stone) Behrens]和马铃薯金线虫(Golden potato cyst

nematode) [*Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens], 总计22种病虫害。

1 马铃薯病害检测技术及特点

目前, 马铃薯病害检测最常用的技术有生物学检测法(Biology detection)、电镜检测技术(Technology of electron microscopy)、血清学方法(Serological detection assay)和分子生物学检测法。

1.1 生物学检测法

生物学检测法是最直观的一种检测技术, 属于最基本的检查方法, 根据植物发病症状进行病害诊断, 适用于所有类型的病害。传统生物学检测技术检测马铃薯病毒病直观、容易操作、价钱便宜, 除检测病毒外, 还可以在形态学上提供病毒毒理指标^[1](表1)。但是, 生物学检测技术鉴定周期长, 需要特定的指示植物, 同时需要严格控制环境条件, 现已不能适应生产上快速检测的需要。

1.2 电子显微镜检测

电子显微镜特有的高分辨率特性, 在马铃薯病害检测、超微结构及形态观察中发挥了重要作用。目前常用的有透射电子显微镜、扫描电子显微镜、环境扫描电子显微镜、扫描隧道显微镜及原子力显微镜等新型电镜。电子显微镜可以清晰地看到微小的病毒粒体, 病原微生物感染植物的过程, 还可以直接观察到细胞结构和细胞器被破坏的过程。

1.3 血清学检测方法

血清学方法是病毒诊断和鉴定的基础方法, 用于植物病毒检测的血清学方法主要包括酶联免疫吸附法、斑点免疫结合测定法、免疫扩散、免疫电泳、荧光免疫等。目前, 应用最为广泛的是酶联免疫吸附法、斑点免疫结合测定法、免疫胶体金技术。在马铃薯病害检测中, 最常用的是双抗体夹心法(Double antibody sandwich enzyme-link immunoassay, DAS-ELISA)。

1.4 分子生物学检测方法

马铃薯病虫害检测常用的分子生物学方法有聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)、反转录酶-聚合酶链锁反应(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)方法、实时定量PCR(Quantitative real-time polymerase chain reaction,

表1 马铃薯病毒的鉴别寄主及症状
Table 1 Host plants and symptoms of potato viruses

马铃薯病毒病 Potato virus	接种方式 Inoculation mode	指示植物 Indicator plant	症状 Symptom
PVX	摩擦 Rub	毛曼陀罗 (<i>Datura metel</i>)	汁液摩擦接种,在20℃条件下,接种10 d后接种叶片出现局部病斑心叶花叶。
		千日红 (<i>Gomphrena globosa</i>)	汁液摩擦接种5~7 d,在接种叶片出现紫红环枯斑。
		白花刺果曼陀罗 (<i>Datura stramonium</i>)	接种后10 d心叶出现花叶症状。
		指尖椒 (<i>Capsicum annuum</i>)	接种10~12 d接种叶片出现坏死斑点,以后系统发病。
PVY	摩擦或(桃蚜) Rub or peach aphid	普通烟草 (<i>Nicotiana tabacum</i>)	汁液接种7~10 d感病初期叶片明脉,后期是沿脉绿状。
		洋酸浆 (<i>Physalis floridana</i>)	汁液摩擦接种后,在室温16~18℃条件下,经10~15 d,在接种叶片上出现黄褐色不规则的枯斑,以后落叶。
		枸杞 (<i>Lycium chinense</i>)	接种10 d左右,接种叶片产生模糊不清的褐色局部病斑。
		A6	接种5~10 d接种叶片出现褐色球状坏死枯斑。初浸染时呈绿色圆环斑,逐渐坏死。
PVS	摩擦 Rub	千日红 (<i>Gomphrena globosa</i>)	汁液摩擦接种14~25 d,接种叶片出现红色小斑点,略微凸出的圆环小斑点。
		莧色藜 (<i>Chenopodium amaranticolor</i>)	接种20~25 d叶片出现局部黄色斑点。
		德伯尼烟 (<i>N. debneyi</i>)	初期明脉以后是暗绿块斑花叶。
PLRV	桃蚜 Peach aphid	洋酸浆 (<i>Physdis floridana</i>)	蚜虫接种,温度24℃条件下,接种6~8 d开始出现系统卷叶失绿、生长表现抑郁。
		白花刺果曼陀罗 (<i>Datura stramonium</i>)	蚜虫接种后,表现系统卷叶。
PVM	摩擦 Rub	千日红 (<i>Gomphrena globosa</i>)	接种15~20 d,接种叶片沿叶脉周围出现紫红色斑点。
		毛曼陀罗 (<i>Datura metel</i>)	接种10 d后,接种叶片出现失绿小圆斑至褐色枯斑,以后系统发病。
		德伯尼烟 (<i>N. debneyi</i>)	接种10 d后接种叶片出现局部病斑。

qPCR)方法和实时定量 RT-PCR(Quantitative real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, qRT-PCR)方法、核酸杂交检测技术(Nucleic acid spot hybridization, NASH)和免疫荧光检测技术(Immunofluorescence, IF)等。分子生物学方法对于常规方法研究较困难的植物病毒、类病毒,以及专性寄生病原菌的检测,显示了较强的优越性,技术灵敏度高,操作简便。其中,核酸杂交检测技术是目前马铃薯类病毒检测主要采用的技

术,而免疫荧光检测技术在马铃薯细菌性病害检测中广泛应用。

2 28个病害检测技术标准

2.1 马铃薯类病毒检测标准

涉及马铃薯类病毒检测技术标准共有5项(表2)。《马铃薯纺锤块茎类病毒检疫鉴定方法》(GB/T 31790-2015)^[2]和《马铃薯纺锤块茎类病毒检疫鉴定方法》(SN/T 3437-2012)^[3]均由全国植物检

表2 马铃薯类病毒检测标准
Table 2 Detection standard of potato spindle tuber viroid

标准名称 Standard name	检测方法 Method	标准代码 Standard code
马铃薯纺锤块茎类病毒检疫鉴定方法 Detection and identification of potato spindle tuber viroid	生物学 R-PAGE RT-PCR qRT-PCR	GB/T 31790-2015
马铃薯纺锤块茎类病毒检测 Detection of potato spindle tuber viroid (PSTVd)	R-PAGE RT-PCR	NY/T 1962-2010
马铃薯纺锤块茎类病毒检测核酸斑点杂交法 Detection of potato spindle tuber viroid (PSTVd)-Nucleic acid spot hybridization (NASH)	NASH	NY/T 2744-2015
马铃薯纺锤块茎类病毒检疫鉴定方法 Detection and identification of potato spindle tuber viroid	生物学 R-PAGE RT-PCR qRT-PCR	SN/T 3437-2012
脱毒马铃薯种薯(苗)病毒检测技术规程 Rules for virus detection of virus-free seed (seedling) potatoes	R-PAGE RT-PCR	NY/T 401-2000

疫标准化技术委员会提出。马铃薯类病毒作为国家检疫性病害, 2个标准中规定的检测方法包括生物学方法、往复聚丙烯酰胺凝胶电泳法(Return-polyacrylamide gel electrophoresis, R-PAGE)、RT-PCR方法和qRT-PCR方法。标准中规定生物学症状明显的样品, 通过标准中一种方法检测为阳性, 即可判断为样品携带PSTVd, 如果未发现生物学症状, 则需要通过不同原理的2种方法进行检测, 均为阳性的样品, 判定样品携带PSTVd。从检疫角度出发, 标准中规定的结果判定方法符合国际检疫性病害判定方法, 结果严谨准确。

《马铃薯纺锤块茎类病毒检测》(NY/T 1962-2010)^[4]和《脱毒马铃薯种薯(苗)病毒检测技术规程》(NY/T 401-2000)^[5]中规定了采用R-PAGE和RT-PCR方法进行检测的具体流程, 结果规定其中一种方法检测结果为阳性则样品中含有PSTVd。《马铃薯纺锤块茎类病毒检测核酸斑点杂交法》(NY/T 2744-2015)^[6], 采用核酸探针的方法进行检测, 结果出现蓝紫色斑点的样品为阳性样品。

由于类病毒没有蛋白外壳, 因此在RT-PCR检测过程中, 实验环境要多通风、设备紫外杀菌处理, 防止检测中受到气溶胶的污染, 造成假阳性。NASH和R-PAGE不受气溶胶影响, 但R-PAGE检测灵敏

度较低, NASH检测灵敏度与RT-PCR相似, NASH方法操作简单, 结果准确, 对核酸要求不高, 并在田间可以直接取汁液至检测的硝酸纤维素膜上, 不需要将样品带回实验室, 一次性检测样品多, 适合大面积推广应用。因此, 在实际的类病毒检测过程中, 根据实验室的实际条件, 选择适合的检测方法。条件符合的实验室最好选用NASH或RT-PCR方法检测。如果实验室条件有限, 大田样品检测时可以使用R-PAGE方法, 但由于易受R-PAGE检测灵敏度的限制, 可能出现漏检的情况。

2.2 马铃薯细菌病害检测标准

目前, 马铃薯细菌性病害检测标准中, 涉及环腐病标准有1个国家标准和1个检疫标准, 青枯病有1个检疫标准。此外, 在产地检疫标准中同时规定了青枯病和环腐病的检测方法(表3)。

《马铃薯环腐病菌检疫鉴定方法》(GB/T 28978-2012)^[7]和《马铃薯环腐病菌检疫鉴定方法》(SN/T 1135.5-2007)^[8]均由检疫部门提出申请完成, 其中2007版行业标准中规定检测方法为血清学和PCR方法, 结果需要2种方法检测结果均呈阳性, 才能判定样品含有环腐病。但是, 目前用于血清学检测试剂不易购买, 因此该标准只能采用PCR一种方法进行检测。

表3 马铃薯细菌病害检测标准
Table 3 Detection standard of potato bacterium disease

标准名称 Standard name	检测方法 Method	标准代码 Standard code
马铃薯环腐病菌检疫鉴定方法 Detection and identification of <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	生物学 BIOLOG 鉴定 DAS-ELISA PCR qPCR 致病性鉴定	GB/T 28978-2012
马铃薯环腐病菌检疫鉴定方法 Detection and identification of <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	血清学 PCR	SN/T 1135.5-2007
马铃薯种薯产地检疫规程(环腐、青枯) Plant quarantine rules for producing areas of seed potato	环腐革兰氏染色 青枯 NCM-ELISA	GB 7331-2003
马铃薯青枯病菌检疫鉴定方法 Detection and identification of <i>Ralstonia solanacearum</i> (Smith)	生物学 生物型 选择培养基 血清学 PCR qPCR	SN/T 1135.9-2010

《马铃薯环腐病菌检疫鉴定方法》(GB/T 28978-2012)中规定了生物学检测、Biolog 鉴定、DAS-ELISA 检测、PCR 检测和致病性测定的方法，结果判定依据 Biolog 检测、DAS-ELISA 检测或分子生物学检测(PCR 方法或 qPCR 方法)结果，其中基于 2 种不同原理的方法检测结果呈阳性、且致病性测定为阳性时，判定为马铃薯环腐病菌。当 DAS-ELISA 检测或分子生物学检测(PCR 方法或 qPCR 方法)初筛检测结果为阴性，或其中只有一种检测方法的结果为阳性时，判定为非马铃薯环腐病菌。该标准中的方法不仅需要实验室检测鉴定，还需要致病性鉴定，结果判定科学合理，严谨准确，符合检疫性病害国家判定方法，但该标准规定的方法实验周期较长，多数实验室不能满足要求。《马铃薯种薯产地检疫规程》(GB 7331-2003)^[9]中规定可以使用革兰氏染色的方法鉴定马铃薯环腐病菌。若结果通过染色、显微镜观察，成蓝紫色的单个或 2~4 个聚集的短杆状菌体为革兰氏阳性菌，为环腐病菌，染成粉红色的即可排除环腐病菌，判定为革兰氏阴性反应，该方法容易操作、实验条件容易达到要求，但检测灵敏度较低，同时，该标准也规定了硝酸纤维素膜酶联免疫吸附测定法(Nitro cellulose-

membrane - enzyme linked emmusorbent assay, NCM-ELISA)的检测方法。

《马铃薯青枯病菌检疫鉴定方法》(SN/T 1135.9-2010)^[10]规定了生理生化反应测定的结果可通过生物型区分、选择性培养基、血清学、PCR 和 qPCR 方法进行判定，结果判定为血清学或 PCR 检测为阳性，即判定样品含有青枯病菌。

环腐病在中国部分地区时有发生，现行的 3 个标准中涉及的检测方法，建议选择灵敏度较高的 PCR 方法进行检测，如果实验条件不能满足可以选择革兰氏进行初筛，检出阳性后再运用不同原理方法进行检测，保证结果准确。在青枯病检测上，血清检测试剂盒市场上不容易购买，同时考虑到灵敏度等因素，建议采用 PCR 方法进行检测和判定结果。目前，对产业影响较大的马铃薯黑胫病还没有标准支持检测工作，急需制定完善。

2.3 马铃薯病毒病检测标准

马铃薯病毒检测技术标准涉及 9 种病毒，共 10 个标准(表 4)。《脱毒马铃薯种薯(苗)病毒检测技术规程》(NY/T 401-2000)中规定了 PVY、PVA、PVX、PVM、PVS 和 PLRV 6 种病毒的血清学检测方法，结果判定为(检测样品 OD₄₀₅)/(阴性对照

表4 马铃薯病毒病检测标准
Table 4 Detection standard of potato viruses

标准名称 Standard name	检测方法 Method	标准代码 Standard code
脱毒马铃薯种薯(苗)病毒检测技术规程 Rules for virus detection of virus-free seed (seedling) potatoes	DAS-ELISA	NY/T 401-2000
马铃薯 A 病毒检疫鉴定方法 Quarantine identification of potato virus A	生物学 DAS-ELISA RT-PCR	SN/T 1135.7-2009
马铃薯 A 病毒检疫鉴定方法纳米颗粒增敏胶体金免疫层析法 Detection and identification of potato virus A—Nanoparticles-enlarged in colloidal gold immunochromatographic assay	免疫胶体金	GB/T 28974-2012
马铃薯卷叶病毒检疫鉴定方法 Quarantine identification of potato leaf roll virus	DAS-ELISA RT-PCR	SN/T 2627-2010
马铃薯 M 病毒检疫鉴定方法 Quarantine identification of potato virus M	DAS-ELISA RT-PCR	SN/T 1135.12-2015
马铃薯 Y 病毒检疫鉴定方法 Quarantine identification of potato virus Y	生物学 DAS-ELISA 免疫胶体金 RT-PCR qRT-PCR 免疫电泳	SN/T 1135.13-2015
马铃薯 6 种病毒的检测 RT-PCR 法 Detection of the six potato viruses-RT-PCR method	RT-PCR	NY/T 2678-2015
马铃薯黄化矮缩病毒检疫鉴定方法 Quarantine method for identification of potato yellow dwarf <i>Nucleorhabdovirus</i>	生物学 血清学 电泳	SN/T 1135.2-2003
马铃薯帚顶病毒检疫鉴定方法 Quarantine method for identification of potato mop-top <i>Pomovirus</i>	生物学 血清学 电泳 RT-PCR	SN/T 1135.3-2003
马铃薯 V 病毒检疫鉴定方法 Quarantine identification of potato virus V	DAS-ELISA RT-PCR qRT-PCR 生物学	GB/T 31806-2015

OD₄₀₅)≥2 时, 样品为阳性。该方法适用于大田样品检测。具有一次性检测样品量大、操作简单、实验条件要求低等特点, 但在试管苗检测时, 由于 DAS-ELISA 检测灵敏度和试管苗本身浓度低的原因, 可能会出现漏检。

由于 PVA 是检疫性病害, 检疫部门制定了《马铃薯 A 病毒检疫鉴定方法》(SN/T 1135.7-2009)^[11]和《马铃薯 A 病毒检疫鉴定方法纳米颗粒增敏胶体金免疫层析法》(GB/T 28974-2012)^[12]。其中检疫行业标准中规定了生物学、DAS-ELISA 和 RT-PCR 检测方法, 并且规定当 DAS-ELISA 检测结果为阳性时, 需

要生物学或是 RT-PCR 检测结果亦为阳性的样品, 才能判定为含有 PVA 病毒。国际标准中规定采用免疫胶体金的方法进行检测, 在结果判定上同样需要生物学或是 RT-PCR 检测结果亦为阳性的样品, 才能判定样品中含有 PVA 病毒。

《马铃薯卷叶病毒检疫鉴定方法》(SN/T 2627-2010)^[13]和《马铃薯 M 病毒检疫鉴定方法》(SN/T 1135.12-2015)^[14]规定 DAS-ELISA 和 RT-PCR 检测方法。其中, 有一种方法检测结果为阳性即可判定为样品含有卷叶病毒; 若结果均为阴性, 样品中不含 PVM, DAS-ELISA 检测为阳性或疑似阳性的样品,

需经RT-PCR检测为阳性,且测序结果为目的片段的样品判定为含有PVM病毒。

《马铃薯Y病毒检疫鉴定方法》(SN/T 1135.13-2015)^[15]规定DAS-ELISA、胶体金免疫层析法、RT-PCR检测方法、qRT-PCR、免疫电镜和生物学方法。结果中无可疑症状的样品,通过血清学或分子生物学任意一项检测结果为阴性,则判断样品不带PVY;若有可疑样品,通过血清学或分子生物学方法任意2项检测结果为阴性时,则判定样品中不带PVY。免疫学原理的一种,分子生物学原理的一种和免疫电镜,任意2种方法检测为阳性的,则样品含有PVY。免疫学原理的一种或分子生物学原理任意一种检测结果为阳性,并通过生物学检测表现为叶脉坏死的阳性样品,则判断含有PVY⁸株系。该标准中检测方法比较全面,但结果判定较为繁琐,通常情况下非检疫性病害,应用除生物学方法外的一种检测技术即可判定结果。

《马铃薯6种病毒的检测RT-PCR法》(NY/T 2678-2015)^[16]规定了PVY、PVA、PVX、PVM、PVS和PLRV 6种病毒单重和多重检测程序,该标准应用通用反应程序,检测病毒种类时仅需要调整引物和水的体积即可,简单方便,通量大,灵敏度高,适合检测试管苗和薯块样品。电泳检测结果中若出现目的片段,即可判定为阳性样品。

《马铃薯黄化矮缩病毒检疫鉴定方法》(SN/T 1135.2-2003)^[17]规定了关于生物学、血清学和电镜的检测方法,检测结果中若植株或薯块具有典型症状、病毒粒子典型形态、血清学检测为阳性和生物测定鉴别寄主典型症状的样品,判定样品含有马铃薯黄化矮缩病毒。该标准在结果判定上要求较为严格,一般实验室很难同时满足条件,因此在实际检测操作中一般可以采用血清学方法检测判定结果,如需确定则需送检疫部门测定。

《马铃薯帚顶病毒检疫鉴定方法》(SN/T 1135.3-2003)^[18]规定了生物学、血清学、电子显微镜技术和分子生物学的相关方法,结果判定为薯块和病株样品症状具有典型病害症状,血清学检测和RT-PCR检测结果均为阳性,且生物学检测鉴别寄主产生典型症状的样品,即可以判定含有马铃薯帚顶病毒。

《马铃薯V病毒检疫鉴定方法》(GB/T 31806-2015)^[19]规定了DAS-ELISA方法、RT-PCR、qRT-PCR和生物学检测方法,结果判定除生物学方法外,检测的样品呈阴性时则样品中不含PVV病毒,样品经DAS-ELISA检测为阳性,分子生物学检测也为阳性的样品即可以判定为样品含PVV病毒。

马铃薯病毒检测标准中均涉及血清学方法,目前该方法已得到广泛推广,具有操作简单,检测通量大等特点。因此,建议在实际检测工作中,大田样品采用灵敏度、特异性较好的DAS-ELISA方法检测。而分子生物学方法具有一次性检测病害种类多、灵敏度高的特点,适合检测试管苗样品和块茎样品,以及验证DAS-ELISA检测的临界值样品。检测试管苗样品时如果出现临界值样品时,需要启动RT-PCR验证。免疫胶体金检测方法适合大田样品现场检测,但试纸条价格较高,目前不能实现大面积应用。电镜检测法实验室大多不具备设备条件,而且在检测时极易漏检。生物学方法则检测周期长,需要温室等隔离条件,实际操作性不强。因此,建议在日常检测工作中可以采用DAS-ELISA和RT-PCR检测方法,判定检测结果。

2.4 真菌性病害检测标准

7种真菌性病害的检测标准均为检疫部门提出(表5),其中,银屑病、黑粉病、坏疽病、皮斑病和癌肿病均为检疫性病害,对产业危害较重。

《马铃薯银屑病菌检疫鉴定方法》(GB/T 28093-2011)^[20]、《马铃薯黑粉病菌检疫鉴定方法》(SN/T 1135.4-2006)^[21]、《马铃薯坏疽病菌检疫鉴定方法》(SN/T 1135.8-2009)^[22]和《马铃薯绯腐病菌检疫鉴定方法》(SN/T 1135.6-2008)^[23]均规定采用生物学方法检测,若样品具有典型的病害症状、病原菌形态和培养特征,则判定为阳性样品。《马铃薯炭疽病菌检疫鉴定方法》(SN/T 2729-2010)^[24]和《马铃薯皮斑病菌检疫鉴定方法》(SN/T 1135.11-2013)^[25]除规定采用生物学方法检测外,还规定了PCR和测序方法,其中,SN/T 2729-2010结果判定规定若样品具有典型的病害症状、病原菌形态和培养特征,或培养后获得的样品经过PCR检测,可以得到目的片段的样品均为马铃薯炭疽病菌阳性样品。而SN/T 1135.11-2013规定样品具有典型的病原菌形态特征,

表5 马铃薯真菌性病害检测标准
Table 5 Detection standard of potato fungal diseases

标准名称 Standard name	检测方法 Method	标准代码 Standard code
马铃薯银屑病菌检疫鉴定方法 Detection and identification of <i>Helminthosporium solani</i> Dur. & Mont.	生物学	GB/T 28093-2011
马铃薯黑粉病菌检疫鉴定方法 Identification of <i>Thecaphora solani</i> (Thirumalachar & O'Brien) Mor-due	生物学	SN/T 1135.4-2006
马铃薯坏疽病菌检疫鉴定方法 Quarantine identification of <i>Phoma exigua</i> var. <i>foveata</i>	生物学	SN/T 1135.8-2009
马铃薯维腐病菌检疫鉴定方法 Identification of <i>Phytophthora erythroseptica</i> Pethybridge	生物学	SN/T 1135.6-2008
马铃薯炭疽病菌检疫鉴定方法 Detection and identification of <i>Colletotrichum coccodes</i> (Wallr.) Hughes	生物学 PCR	SN/T 2729-2010
马铃薯皮斑病菌检疫鉴定方法 Detection and identification of <i>Polyscytalum pustulans</i> (M. N. Owen et Wakef.) M. B. Ellis	生物学 PCR	SN/T 1135.11-2013
马铃薯癌肿病检疫鉴定方法 Methods of quarantine and identification for <i>Synchytrium endobiti-cum</i> (Schilberszky) Percival	镜检	SN/T 1135.1-2002

表6 马铃薯甲虫检测标准
Table 6 Detection standard of colorado potato beetle

标准名称 Standard name	检测方法 Method	标准代码 Standard code
植物检疫马铃薯甲虫检疫鉴定方法 ^[28] Plant quarantine methods for inspection and identification on Colorado potato beetle [<i>Leptinotarsa decemlineata</i> (Say)] ^[28]	生物学	SN/T 1178-2003

表7 马铃薯线虫检测标准
Table 7 Detection standard of potato nematodes

标准名称 Standard name	检测方法 Method	标准代码 Standard code
马铃薯白线虫检疫鉴定方法 ^[29] Inspection and identification of the white potato cyst nema-tode <i>Globodera pallida</i> (Stone) Behrens ^[29]	生物学	SN/T 1723.1-2006
马铃薯金线虫检疫鉴定方法 ^[30] Inspection and identification of golden potato cyst nematode <i>Globodera rostochiensis</i> (Wollenweber) Behrens ^[30]	生物学	SN/T 1723.2-2006

并经过PCR检测或测序检测为马铃薯皮斑病阳性的样品。《马铃薯癌肿病检疫鉴定方法》(SN/T 1135.1-2002)^[26]和《马铃薯种薯产地检疫规程》(GB 7331-

2003)^[27]都规定了采用镜检的方式进行检测, 检疫行业标准中还规定了病害引起的生物学症状判定方法。

马铃薯真菌病害相对容易识别, 发病症状典型, 所以检测中多以典型的病害症状及真菌的生物学特征进行检测和结果判定, 在特殊条件下, 有些病害也可能潜隐在样品中, 不容易直接目测判断, 造成漏检, 因此也需要进一步完善PCR检测技术, 补充生物学检测的不足。同时, 一些常见的真菌病害, 如晚疫病、早疫病、黑痣病、枯萎病和粉痂病等病害, 通常也是应用生物学方法鉴定, 但在检测工作中还缺少相应的检测标准支持, 有待补充完善。

2.5 马铃薯甲虫检测标准

马铃薯甲虫具有显著的形态特征, 在标准中规定了甲虫不同时期的形态及特征, 可以据此进行判定检测结果(表6)。马铃薯甲虫个体比较大, 较容易识别, 因此, 该标准可行性较高。

2.6 马铃薯线虫检测

目前, 马铃薯线虫检测只有针对白线虫和金线虫2个检疫行业标准(表7)。标准中均详细规定了线虫的形态特征, 并据此判定检测结果。但线虫个体小, 检测时需要专业的技术人员, 检测标准推行难度较大。

3 讨 论

综上所述, 目前中国针对常见马铃薯病毒、类病毒、真菌性病害、细菌性病害、马铃薯线虫病害已建立较为系统健全的检测标准体系, 基本可以满足马铃薯检测的需求。但随着马铃薯产业的不断发展和在实践过程中一些检测机构现有条件的制约, 马铃薯检测技术的应用仍存在一些亟待解决的问题。

(1)近年来逐渐发现一些新的危害产业发展的病害, 主要包括病毒病和细菌性病害, 现有的检测标准未能涉及。

(2)马铃薯真菌性病害和马铃薯线虫病害检测标准多采用生物学检测方法, 方法较为单一, 不全面。

(3)马铃薯线虫生物学鉴定需要专业技术人员, 鉴定难度较大, 检测效率低, 可行性差。

因此, 应根据马铃薯产业发展的需要不断完善检测标准, 规范检测流程, 提高检测效率, 培养更专业、技术更全面的检测人才, 真正为马铃薯产业的发展服务。

[参 考 文 献]

- [1] 李芝芳. 中国马铃薯主要病毒图鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 31790-2015 马铃薯纺锤块茎类病毒检疫鉴定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 3437-2012 马铃薯纺锤块茎类病毒检疫鉴定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [4] 中华人民共和国农业部. NY/T 1962-2010 马铃薯纺锤块茎类病毒检测 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
- [5] 中华人民共和国农业部. NY/T 401-2000 脱毒马铃薯种薯(苗)病毒检测技术规程 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [6] 中华人民共和国农业部. NY/T 2744-2015 马铃薯纺锤块茎类病毒检测核酸斑点杂交法 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 28978-2012 马铃薯环腐病菌检疫鉴定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.5-2007 马铃薯环腐病菌检疫鉴定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 7331-2003 马铃薯种薯产地检疫规程 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.9-2010 马铃薯青枯病菌检疫鉴定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.7-2009 马铃薯 A 病毒检疫鉴定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [12] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 28974-2012 马铃薯 A 病毒检疫鉴定方法纳米颗粒增敏胶体金免疫层析法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2627-2010 马铃薯卷叶病毒检疫鉴定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.12-2015 马铃薯 M 病毒检疫鉴定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.

- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.13-2015 马铃薯Y病毒检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [16] 中华人民共和国农业部. NY/T 2678-2015 马铃薯6种病毒的检测RT-PCR法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.2-2003 马铃薯黄化矮缩病毒检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.3-2003 马铃薯帚顶病毒检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 31806-2015 马铃薯V病毒检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [20] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 28093-2011 马铃薯银屑病菌检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [21] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.4-2006 马铃薯黑粉病菌检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.8-2009 马铃薯坏疽病菌检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [23] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.6-2008 马铃薯缢腐病菌检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [24] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2729-2010 马铃薯炭疽病菌检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [25] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.11-2013 马铃薯皮斑病菌检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [26] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1135.1-2002 马铃薯癌肿病检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [27] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 7331-2003 马铃薯种薯产地检疫规程[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [28] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1178-2003 植物检疫马铃薯甲虫检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [29] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1723.1-2006 马铃薯白线虫检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [30] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1723.2-2006 马铃薯金线虫检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

丁香吩®



亚达益农

马铃薯晚疫病首选治疗剂

保定市亚达益农农业科技有限公司（原保定市亚达化工有限公司）成立于1997年，是国家定点农药企业，多年来先后获得过河北省高新技术企业、国家科技成果推广示范企业、重合同守信誉企业、消费者信得过企业等荣誉称号。

我公司独家配方“丁香吩”牌丁子香酚经过多年的推广应用对预防和治疗马铃薯晚疫病效果显著，具有速效治疗、长效保护、低毒绿色、无交互抗性等特点，而且是“减药增效”和替代化学药剂的首选产品。

我公司多年来始终坚持“以质量求生存、以信誉求发展；为客户服务、让农民满意”的方针，坚持贯彻国家“农药减量增效、使用零增长”的发展目标，愿与大家携手共进，共同合作，共谋发展！联系电话：0312-8683157