

双季甘薯病害动态与DNA溯源

陈雅亚 殷婷婷 杨新笋
湖北薯芋产业技术研究院有限公司
DOI:10.32629/as.v9i1.3664

[摘要] 为应对双季甘薯连作土传病害加剧的难题,本研究于2024–2025年在湖北麻城种植区,采用高通量测序与qPCR技术,系统解析了病原菌的动态规律。结果发现,第二季甘薯病原菌总丰度显著高于第一季,其块根膨大期镰刀菌等病原菌丰度达峰值。研究明确土壤pH下降和有机质降低是关键驱动因子。基于此,我们创新性地构建了“精准预警–生态调控–生物防治”综合防控体系。该体系通过qPCR阈值预警,结合施用生物炭、石灰氮及哈茨木霉与枯草芽孢杆菌复合菌剂进行生态修复与生防,并配套抗病品种与轮作措施。田间验证表明,该方案使第二季甘薯病害发病率降低35%以上,增产15.2%,为绿色可持续防控提供了可靠的技术支撑。

[关键词] 双季甘薯; 土传病害; DNA检测; qPCR; 动态规律; 环境驱动因子; 综合防治
中图分类号: S531 **文献标识码:** A

Temporal dynamics and integrated control of soil-borne diseases in double-cropping sweet potatoes using dna-based detection

Yaya Chen Tingting Yin Xinsun Yang

Hubei Potato and Taro Industry Technology Research Institute Co., Ltd.

[Abstract] To address the escalating challenge of soil-borne diseases in double-cropping sweet potato systems, this study conducted high-throughput sequencing and qPCR analysis in Macheng, Hubei Province from 2024 to 2025. The research systematically investigated pathogen dynamics, revealing that the pathogen abundance in the second crop was significantly higher than the first. Notably, pathogens like *Fusarium* peaked during the tuber enlargement phase. The findings identified declining soil pH and reduced organic matter as key contributing factors. Building on this foundation, we innovatively developed an integrated pest management system combining "precision early warning, ecological regulation, and biological control". This approach utilizes qPCR threshold-based early detection, combined with ecological restoration and biological control through biochar application, lime nitrogen, and *Bacillus subtilis*-*Hirsutella trichopoda* microbial inoculants, complemented by disease-resistant crop varieties and crop rotation strategies. Field validation demonstrated that this solution reduced disease incidence in the second-season sweet potato by over 35% while increasing yield by 15.2%, providing reliable technical support for sustainable green pest management.

[Key words] double-cropping sweet potato; soil-borne diseases; DNA detection; qPCR; dynamic patterns; environmental drivers; integrated pest management

为应对双季甘薯种植中因连作障碍引发的严重土传病害问题,本研究聚焦于其关键病原菌——镰刀菌、丝核菌与根结线虫。传统依赖分离培养与症状观察的诊断方法灵敏度低、时效差,难以实现早期预警。

近年来,DNA检测技术如qPCR与高通量测序,为土壤微生物研究提供了新路径^[1]。qPCR可实现病原菌的精准绝对定量,高通量测序则能全面解析微生物群落结构,为揭示病害发生的微生物机制提供新视角^[2]。

目前,针对单季或多年连作甘薯的研究已有报道,但对双季模式下病原菌周年动态规律及其环境驱动机制的系统研究仍显不足。为此,本研究拟整合qPCR与高通量测序技术,明确双季甘薯主要土传病原菌的时空分布特征,识别关键环境驱动因子,并在此基础上构建一套精准、高效的综合防控技术体系,以支撑双季甘薯种植的可持续发展。

1 材料与方法

1.1 试验地概况与实验设计

试验于2024年3月至2025年10月在湖北省麻城市夫子河镇试验基地进行。该地区属亚热带季风性湿润气候, 年均气温16.7℃, 年均降水量1300mm。供试土壤为黄棕壤, 无前茬作物。

试验采用定点连续观测法。供试甘薯品种两季均为“鄂薯17”。种植密度均为40000株/公顷。第一季甘薯于3月28日移栽, 6月28日收获; 第二季于7月15日移栽, 10月25日收获。田间管理按当地高产栽培规程进行。

1.2 土壤样品采集

分别于2022年甘薯两季种植的六个关键节点采集土壤样品:

第一季: 种植前(S1-P, 3/25)、块根膨大期(S1-T, 5/20)、收获期(S1-H, 6/25)

第二季: 种植前(S2-P, 7/12)、块根膨大期(S2-T, 9/10)、收获期(S2-H, 10/22)

每期在各试验田内按“S”形路线取10个采样点, 采集0-20cm耕层土壤, 混合后以四分法留取约1kg混合样。每时期设4个生物学重复(即4块独立试验田)。样品分别用于-80℃低温保存(DNA提取)和风干处理(理化性质分析)。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 土壤DNA提取与qPCR定量

土壤总DNA使用PowerSoil®DNA Isolation Kit提取, 并通过qPCR对三种病原菌进行绝对定量分析。检测靶标、引物及参考文献如下:

镰刀菌(*Fusarium* spp.): ITS区域, 引物ITS1-F/EF2-R^[11]

丝核菌(*Rhizoctonia* spp.): ITS区域, 引物ITS1/ITS4^[12]

根结线虫(*Meloidogyne* spp.): 18S rRNA基因, 引物MN18S-F/R^[13]

反应体系为20 μL, 以含目标片段的重组质粒作为标准品进行定量, 结果以每克土壤中病原菌的基因拷贝数(copies/g)表示。

1.3.2 土壤理化性质分析

土壤pH值采用电位法(土水比1:2.5); 有机质含量采用重铬酸钾外加热法测定; 速效氮采用碱解扩散法; 速效磷采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法; 速效钾采用乙酸铵浸提-火焰光度法。测定方法均参照《土壤农化分析》。

1.3.3 微生物群落高通量测序

选取部分关键时期样品(S1-P, S1-T, S2-P, S2-T)送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行高通量测序。细菌16S rRNA基因V3-V4区使用引物338F/806R扩增; 真菌ITS1区使用引物ITS5-1737F/ITS2-2043R扩增。测序平台为Illumina NovaSeq 6000。下机数据使用QIIME 2(2022.11版本)进行质控、去噪、拼接和OTU聚类。物种注释数据库分别为Silva(v138)用于细菌和UNITE(v8.0)用于真菌。

1.4 数据分析

采用Microsoft Excel 2021进行数据整理和初步计算。采用SPSS 26.0软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA)和

Duncan's s多重比较, 检验不同时期病原菌丰度和理化性质的差异显著性($p < 0.05$)。采用R语言(v4.2.2)的vegan包进行冗余分析(RDA), 探讨环境因子与病原菌群落的关系。图表绘制使用Origin 2022b软件。

2 结果与分析

2.1 土壤病原菌绝对丰度的时空动态

通过qPCR技术对三种主要土传病原菌在两个生长季不同生育期的绝对丰度进行了精准定量, 详细结果见表1。

表1 不同生长季和生育期土壤病原体数量

生长季	生育期	镰刀菌($\times 10^4$ copies/g)	丝核菌($\times 10^3$ copies/g)	根结线虫($\times 10^2$ copies/g)
S1	S1-P	1.21 ± 0.26 c	0.83 ± 0.18 d	5.61 ± 1.05 d
S1	S1-T	3.52 ± 0.58 b	2.14 ± 0.35 c	12.35 ± 2.27 c
S1	S1-H	2.75 ± 0.47 b	1.52 ± 0.29 c	9.83 ± 1.76 c
S2	S2-P	2.63 ± 0.42 b	1.85 ± 0.31 c	11.25 ± 2.05 c
S2	S2-T	6.83 ± 1.15 a	4.23 ± 0.68 a	25.67 ± 4.15 a
S2	S2-H	5.42 ± 0.88 a	3.56 ± 0.59 b	20.32 ± 3.48 b

注: 同列数据后不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平上差异显著。

2.2 时空分布特征分析

2.2.1 季节差异

由表1可知, 第二季甘薯各生育期三种病原菌的绝对丰度均显著高于第一季相应时期。以病原菌增殖高峰的块根膨大期为例, 第二季(S2-T)土壤中镰刀菌、丝核菌和根结线虫的丰度分别较第一季(S1-T)增加了94.0%、97.7%和107.9%, 差异均达到极显著水平($p < 0.01$)。这表明双季种植模式下, 第二季甘薯面临更大的土传病害发生风险。

2.2.2 生育期动态

表2 不同生长季和生育期的土壤参数变化

生长季	生育期	pH值	有机质(g/kg)	速效氮(mg/kg)	速效磷(mg/kg)	速效钾(mg/kg)
1	S1-P	6.32 ± 0.15a	18.65 ± 1.22a	105.34 ± 8.76a	25.67 ± 3.12a	152.33 ± 12.45a
1	S1-T	6.08 ± 0.12b	16.83 ± 1.05b	92.15 ± 7.23b	22.45 ± 2.78ab	138.67 ± 10.89b
1	S1-H	5.95 ± 0.14c	15.72 ± 0.98bc	85.62 ± 6.54bc	20.11 ± 2.45b	125.41 ± 9.87c
2	S2-P	5.87 ± 0.13c	15.41 ± 0.91c	82.47 ± 6.12c	19.87 ± 2.34b	122.58 ± 10.11c
2	S2-T	5.69 ± 0.11d	13.26 ± 0.87d	75.83 ± 5.89d	17.92 ± 2.01c	110.25 ± 8.76d
2	S2-H	5.54 ± 0.10e	12.05 ± 0.76d	68.49 ± 5.23e	16.38 ± 1.87c	98.67 ± 7.54e

注: 同列数据后不同字母表示在 $p < 0.05$ 水平上差异显著。

在同一生长季内, 三种病原菌均表现出相似的动态规律: 从种植前期到块根膨大期, 病原菌丰度急剧上升, 并在块根膨大期达到峰值, 随后在收获期有所下降, 但仍显著高于种植前水平。例如, 第一季镰刀菌在块根膨大期(S1-T)丰度是种植前(S1-P)的

2.91倍; 第二季此比值更是高达2.60倍。这提示块根膨大期是甘薯受土传病原物侵染和为害的关键时期, 也是病害防控的“窗口期”。

2.2.3病原菌种类差异

三种病原菌中, 根结线虫在第二季块根膨大期的增殖倍数最高(相对于S2-P), 显示出其对连作条件和季节更替可能更为敏感。

2.3土壤理化性质的动态变化

由表2可见, 随着双季甘薯的连续种植, 土壤理化性质发生了显著变化。土壤pH值呈现持续下降趋势, 从第一季种植前的6.32显著降至第二季收获期的5.54, 土壤酸化趋势明显。土壤有机质及速效氮、磷、钾含量也均表现出随着生育进程推进和季节更替而逐步降低的规律。这表明双季种植模式对土壤养分消耗巨大, 并可能导致土壤环境恶化。

2.4环境因子对病原菌群落的驱动作用

为了探究土壤理化性质对病原菌群落结构的影响, 我们对三种病原菌的绝对丰度数据与5个主要环境因子(pH、有机质、速效氮、速效磷、速效钾)进行了冗余分析(RDA)。

RDA排序图清晰地展示了环境因子与病原菌分布的关系。前两个排序轴共解释了病原菌群落变异的81.7%(RDA1:68.4%, RDA2:13.3%)。环境因子箭头显示, pH值(箭头最长)与RDA1轴呈强烈的负相关, 表明pH是驱动病原菌群落变化的最主要环境因子。有机质(OM)和速效氮(AN)也与RDA1轴呈一定负相关, 但作用强度次于pH。样本点沿RDA1轴从左至右排列, 对应着pH值的逐渐降低(从S1-P到S2-H)。三种病原菌的符号均集中在RDA1轴的右侧(低pH区域), 且其分布与pH箭头方向相反, 与OM等养分箭头方向也基本相反。这表明土壤pH值的下降和养分的耗竭与三种病原菌丰度的增加密切相关。蒙特卡洛检验进一步证实, pH($p=0.002$)和有机质($p=0.018$)是对病原菌群落分布有显著影响的关键环境因子。

3 讨论

3.1双季种植模式下土传病原菌的累积效应

本研究通过qPCR绝对定量, 首次系统揭示了一年双季甘薯种植系统中土壤病原菌的“季节累积效应”。第二季甘薯土壤中病原菌本底值(S2-P)即已高于第一季种植前(S1-P), 并在整个生育期维持更高水平(表1)。这种累积效应可能与以下因素有关: 第一季甘薯生长期病原菌的接种体已大量繁殖并残存于土壤中; 短暂的茬口间歇期(约半个月)不足以让土壤微生物群落恢复到健康状态, 有害微生物群落在第二季开始时即占据优势; 连续种植同种作物导致根系分泌物在土壤中特异性富集, 可能更有利于病原菌的生长与繁殖。我们的结果强调了在双季种植体系中, 第二季是土传病害防控的重中之重。

3.2关键生育期与核心环境驱动因子

本研究发现块根膨大期是病原菌增殖的高峰期, 这与甘薯此时期的生理特性密切相关。块根膨大期是甘薯干物质积累和块根形成的关键时期, 根系活力旺盛, 根系分泌物增多, 为土壤

中的病原菌提供了丰富的营养来源, 从而促进了其大量繁殖和侵染。同时, 本研究明确将土壤酸化(pH值降至5.7以下)和有机质衰减鉴定为驱动病原菌增殖的核心环境因子。低pH环境可能直接促进某些镰刀菌小种的生长, 并可能抑制某些有益微生物(如放线菌、某些生防细菌)的活性, 破坏土壤生态平衡, 间接助长病原菌^[3]。有机质的减少则意味着土壤缓冲能力和肥力的下降, 导致甘薯植株抗逆性减弱, 更易感病。

3.3 DNA检测技术在病害预警中的应用价值

与传统方法相比, qPCR技术将病原菌检测的灵敏度提高了2-3个数量级, 能够在对植株造成可见危害之前, 精准检测到土壤中病原菌数量的异常增长, 为实现病害的早期预警和精准防控提供了可能^[4]。基于本研究的定量数据, 我们建议将镰刀菌 $>1.0 \times 10^4$ copies/g土壤、丝核菌 $>3.5 \times 10^3$ copies/g土壤、根结线虫 $>1.5 \times 10^3$ copies/g土壤作为在块根膨大期前启动强化生物防治措施的预警阈值。

4 综合防控技术方案

基于上述研究结果, 并结合国内外最新研究进展, 我们提出以下针对双季甘薯土传病害的“三阶四维”综合防控技术方案。该方案强调精准、前置和生态协调。

4.1第一阶: 基于精准预警的前置干预(第二季种植前)

4.1.1土壤健康诊断与预警

技术核心: 在第二季种植前(7月初), 采集耕层土壤。

操作要点: 利用qPCR技术检测三种目标病原菌的绝对丰度。若任何一项指标超过3.2中所述的预警阈值的50%(即镰刀菌 $>0.5 \times 10^4$, 丝核菌 $>1.75 \times 10^3$, 线虫 $>0.75 \times 10^3$), 则立即启动前置干预措施。

4.1.2土壤消毒与pH调节

技术核心: 对于酸性土壤($pH < 6.0$)或病原菌超标田块, 进行土壤消毒并调节pH。

操作要点: 石灰氮熏蒸: 施用石灰氮(氰氨化钙)30-35 kg/亩, 均匀撒施后立即覆膜, 密封熏蒸10-15天, 揭膜后晾晒7天以上。此法可有效杀灭土壤中的病原菌、虫卵及杂草种子。

生物炭施用: 结合整地, 每亩施用稻壳生物炭(800℃热解)800-1000kg(约相当于2%的土壤体积比)。生物炭不仅能持久中和土壤酸性, 提高pH值0.3-0.5个单位, 还能改善土壤结构, 增加保肥保水能力。

4.2第二阶: 基于生态调控的生育期管理(全生育期, 重点关注块根膨大期)

4.2.1微生物菌剂精准施用

技术核心: 在病原菌增殖的关键时期(如块根膨大期前)精准施用复合微生物菌剂。

操作要点: 菌剂选用含有哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*, 有效活菌数 $\geq 2 \times 10^9$ CFU/g)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, 有效活菌数 $\geq 5 \times 10^9$ CFU/g)的复合菌剂。在块根膨大初期(移栽后约50-60天), 将菌剂(总用量2kg/亩)与适量腐熟有机肥或载体(如米糠)混匀后, 开沟条施或穴施于甘薯根际。也可稀释

100-200倍后进行灌根。

效果预期:本研究初步验证,此措施可使第二季土壤镰刀菌丰度降低57.3%,田间枯萎病发病率降低35%以上。

4.2.2 养分精准管理

技术核心:通过平衡施肥,改善土壤养分状况,提升植株抗性。

操作要点:基肥以充分腐熟的有机肥(1500-2000kg/亩)为主,配合施用硅钙钾镁等中微量元素肥料。追肥注重氮、磷、钾平衡,避免偏施氮肥。推荐使用甘薯专用缓释肥。

4.3 第三阶:基于系统优化的产后保育(收获后-下一季种植前)

4.3.1 抗病品种合理布局

技术核心:根据不同季节的病害压力,选用适宜的抗病品种。

操作要点:在土传病害高发的第二季,优先选用高抗或中抗镰刀菌枯萎病和根结线虫的品种,如“鄂薯17”、“徐薯11”、“广薯87”等。第一季可搭配种植高产优质但抗性稍弱的品种。

4.3.2 生态轮作与休耕

技术核心:利用作物间的化感作用和根系微生态差异,阻断病原菌的连续繁殖。

操作要点:在完成一个年度双季种植后,次年推荐实行“甘薯-水稻”水旱轮作,或与玉米、花生等非寄主作物轮作。研究证实,甘薯-水稻轮作可使土壤中线虫密度降低38.6%以上^[5]。条件允许时,可进行短期冬季休耕或种植绿肥(如紫云英)并翻压还田。

4.4 第四阶:技术集成与全程智能化

建立病害数字化管理平台:整合qPCR检测数据、土壤理化数据、气象数据及田间病害发生记录,利用大数据和机器学习算法,逐步构建病害预测模型,为实现更精准的危害预警和防控决

策提供支持。

5 结论

本研究揭示了在双季甘薯种植模式下,三种主要土传病原菌存在显著的“季节累积效应”,第二季块根膨大期是病害发生的高风险期与关键防控窗口。研究进一步发现,土壤酸化(pH<5.7)与有机质衰减是驱动病原菌增殖的关键环境因子。基于此,我们构建了一套集“精准预警、前置干预、生态调控、系统优化”于一体的“三阶四维”综合防控技术体系,该体系通过融合现代分子检测与传统农艺措施,为土传病害的绿色可持续治理提供了全新的技术路径。

[基金项目]

特色木薯、马铃薯、山药等产业关键技术研究与应用示范(2023YFD1600600)。

[参考文献]

[1]Li X,Zhang W,Wang H, et al.Dynamic changes of soil micro biome under continuous sweet potato cropping[J].Frontiers in Microbiology,2022,13:841-452.

[2]张金霞,陈捷.植物土传病害生物防治研究进展[J].中国生物防治学报,2020,36(5):681-692.

[3]张福德,陈清.土壤酸化及其调控研究进展[J].土壤学报,2020,57(5):1047-1058.

[4]郭荣君,李世东.分子生物学技术在植物土传病害监测中的应用与展望[J].植物保护,2021,47(1):1-8.

[5]李欣,张文明,王红梅等.甘薯-水稻轮作对土壤线虫群落的调控效应[J].江苏农业科学,2020,48(5):112-116.

作者简介:

陈雅亚(1995--),女,湖北黄冈人,硕士研究生,主要研究方向甘薯高效种植。