

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2020.04074

感抗油菜近等基因系混播对根肿病发病率的影响

郭清云¹ 蒯婕^{1,*} 汪波¹ 刘芳² 张椿雨¹ 李根泽³
张云云³ 傅廷栋¹ 周广生¹

¹ 华中农业大学植物科技学院 / 农业农村部长江中游作物生理生态与耕作重点实验室, 湖北武汉 430070; ² 全国农技推广中心油料处, 北京 100125; ³ 云南省农业科学院, 云南昆明 650205

摘要: 近年来, 根肿病的迅速蔓延已对我国油菜生产造成严重威胁。课题组前期多年多点大田试验发现, 感病、抗病品种混播可显著降低感病油菜品种根肿病发病率。为进一步探究感病、抗病品种播种间距对根肿病的防控效果, 本试验采用穴盘栽培, 设置感、抗根肿病油菜近等基因系不同播种间距(0、2、4、6 cm), 出苗后 7 d 接种根肿菌, 接种 42 d 后调查幼苗发病率、病情指数, 并测定根系主要成分。结果表明: (1)与单播相比, 感病、抗病品种同播时, 抗病品种苗期发病率无明显变化, 而感病品种苗期发病率显著下降, 其发病率与感病、抗病品种播种间距密切相关, 二者距离为 0 cm 时的发病率及病情指数均显著($P<0.05$)低于其他处理; (2)与单播相比, 感病、抗病品种同播时, 抗病品种和感病品种根中可溶性糖及可溶性蛋白质含量均显著降低, 酸不溶木质素含量在感病品种中显著增加, 而在抗病品种中呈现先增加后降低的趋势; (3)发病率和病情指数均与根系可溶性糖和可溶性蛋白质含量显著正相关($P<0.01$), 发病率与可溶性糖和可溶性蛋白质含量的相关系数分别为 0.797、0.403, 病情指数与可溶性糖和可溶性蛋白质含量的相关系数分别为 0.822、0.509。综上, 油菜感、抗品种混播可以显著降低感病品种的根肿病发病率, 且混播间距在 0 cm 时效果最好。该技术可以作为油菜根肿病防控的技术措施, 在根肿病发病区域油菜生产上有着较好的应用前景。

关键词: 油菜; 近等基因系; 根肿病; 播种间距

Effect of mixed-sowing of near-isogenic lines on the clubroot disease controlling efficiency in rapeseed

GUO Qing-Yun¹, KUAI Jie^{1,*}, WANG Bo¹, LIU Fang², ZHANG Chun-Yu¹, LI Gen-Ze³, ZHANG Yun-Yun³, FU Ting-Dong¹, and ZHOU Guang-Sheng¹

¹ College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University / Key Laboratory of Crop Ecophysiology and Farming System for the Middle Reaches of the Yangtze River, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430070, Hubei, China; ² National Agricultural Technology Extension Service Center, Beijing 100125, China; ³ Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, Yunnan, China

Abstract: The clubroot disease caused by *Plasmodiophora brassicae* has become a serious threat to rapeseed production in these recent years. In the previous multi-plot and multi-season field experiments, we found that planting of susceptible and resistant cultivars (near-isogenic lines) at different proportions could significantly suppress the incidence of the clubroot disease. In order to explore the preventive and control effect of mix-sowing of susceptible and resistant cultivars on clubroot disease, and identify the factors affecting mixed sowing. Pot experiments with different distance (0, 2, 4, and 6 cm) between the seeds of the resistant and susceptible cultivars were set by artificial inoculation at the 7 days after germination in this study. The disease incidence, disease index and the root biochemical components of rapeseed were measured after forty-two days. The results were as below: (1) the incidence of the resistant cultivar showed no significant change, while the disease incidence and disease index of the susceptible

本研究由国家重点研发计划项目(2018YFD1000900)、湖北省技术创新专项重大项目(2017ABA064)和中央高校基本科研业务费(2662017JC005)资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFD1000900), the Technological Innovation Major Project of the Science and Technology Department of Hubei Province (2017ABA064), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2662017JC005).

* 通信作者(Corresponding author): 蒯婕, E-mail: kuaijie@mail.hzau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: 1278245883@qq.com

Received (收稿日期): 2020-03-21; Accepted (接受日期): 2020-06-02; Published online (网络出版日期): 2020-06-12.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20200612.1107.002.htm>

rapeseed cultivars decreased in the mixed-sowing treatment. Further, the disease incidence was significantly influenced by sowing distance of the two cultivars, which was significantly ($P < 0.05$) lower than those of the other treatments when mixed-sowed at 0 cm. (2) compared to the single planting, the content of soluble sugar and soluble protein in roots of the mixed-sowing treatment were significantly ($P < 0.05$) decreased for the two cultivars, and the content of acid-insoluble lignin was significantly increased in susceptible cultivar whereas decreased after increasing in resistant cultivar. (3) the results of correlation analysis showed that the content of soluble sugar and soluble protein were positively correlated with the disease incidence and disease index. The correlation coefficients between disease incidence and soluble sugar and soluble protein content were 0.797 and 0.403, respectively, meanwhile, the correlation coefficients between disease index and soluble sugar and soluble protein content were 0.822 and 0.509, respectively. In conclusion, the findings provided a new idea for prevention of clubroot disease in the field production in rapeseed.

Keywords: rapeseed; near-isogenic lines; clubroot disease; sowing distance

根肿病是十字花科作物最具破坏性的病害之一^[1], 包括中国在内的 60 多个国家均有根肿病的发生。根肿菌在没有寄主情况下可在土壤中存活 15 年以上^[2], 土壤一旦染菌, 防治极其困难。根肿病危害油菜后, 其籽粒产量与含油量均显著下降^[3-4]。油菜是我国重要的油料作物, 根肿病土传病害的发病区域近年来有扩大发生的趋势。

目前, 根肿病防控措施主要有农业防治^[5-6]、化学防治^[7-12], 这些措施不仅防效较差, 且成本也居高不下, 生产中应用面积不大。实践证明, 抗病品种选育是根肿病防治最根本的途径。然而, 长期单一种植抗病品种, 易增加生理小种定向选择压力, 其他生理小种将成为新的优势小种, 导致抗病品种抗性丧失。在白菜和油菜中已有抗根肿病品种抗性丧失的现象^[13]。

感、抗病品种同播可抑制病害发展, 在小麦条锈病和水稻稻瘟病防控研究上都得到了证实^[14-15]。同播控制病害的机制主要有密度效应^[16]、阻挡效应^[17]和抗性诱导效应^[18]。感、抗病品种同播可稳定优势小种, 从而保持品种抗性持久性^[19]。本课题组前期大田试验发现, 感、抗根肿病油菜品种同播可显著降低感病品种发病率^[20]。但目前尚未见油菜感、抗病品种同播时, 种子的播种间距对根肿病防控效果研究。据此, 本试验采用穴盘栽培方式, 设置感、抗根肿病近等基因系不同播种间距处理, 室内接种根肿病菌, 调查油菜苗期发病率、病情指数, 测定根系成分, 以期有感、抗病油菜品种同播在生产上的应用提供技术支撑及理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌种 安徽绩溪和四川礼州(均为 2 号生理小种), 以及安徽歙县和湖北恩施(均为 4 号生理小种)等根肿病区的油菜病株根系由沈阳农业大学

园艺学院十字花科根肿病防控课题组提供, -40℃ 低温冷冻保存备用。

1.1.2 供试品种(材料) 选用华双 5 号和华双 5R、丙 409 和丙 409R 两组近等基因系为试验材料。华双 5R 和丙 409R 对上述 2 个生理小种均具有较强抗性, 而华双 5 号和丙 409 则对上述 2 个生理小种均表现为感病。

1.2 试验设计

2018 年 9 月 1 日至 2018 年 10 月 27 日在沈阳农业大学园艺学院温室中, 采用穴盘(顶部口径 60 mm、底部口径 28 mm、深度 53 mm)以营养土直播油菜的方式进行。将 2 组感病、抗病近等基因系种子分别按 0 (T1)、2 (T2)、4 (T3)和 6 cm (T4)间距穴播, 每穴播 2~3 粒, 出苗后 4 d, 单穴中抗病及感病材料均定苗 1 株, 以 2 组感、抗病近等基因系种子单独播种为对照, 3 次重复。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 休眠孢子悬浮液制备及接种 接种当天制备休眠孢子悬浮液。将低温保存的根肿组织在室温下解冻后切块, 加水搅成匀浆, 用纱布过滤后收集菌液。取适量菌液稀释后, 用医用血球计数板在显微镜下镜检休眠孢子数量并计算其浓度, 并将休眠孢子悬浮液浓度调至 10^7 孢子 mL^{-1} , 备用。于出苗后 7 d, 分别吸取 2 个生理小种浓度为 10^7 孢子 mL^{-1} 的菌悬液 1 mL 接种于幼苗根部。华双 5 号和华双 5R 分别接种绩溪 2 号小种和恩施 4 号小种, 丙 409 和丙 409R 分别接种礼州 2 号小种和歙县 4 号小种。

1.3.2 病情调查 接种后 42 d 调查病情。将油菜根系洗净后, 每 60 株调查患根肿病株数, 根据公式(1)计算发病率。根据病害分级及公式(2)计算病情指数。分级标准如下: 0 级, 无症状; 1 级, 少量小根瘤, 根瘤体积小于根系的 1/3; 2 级, 中度结瘤, 根瘤体积是根系的 1/3 至 1/2; 3 级, 重度结瘤, 根瘤体积超过根系 2/3。

发病率= $\frac{\text{发病株数}}{\text{调查总株数}} \times 100\%$ (1)

病情指数= $\frac{\sum(\text{各级发病株数} \times \text{各级代表数值})}{\text{调查总株数} \times \text{最高发病级代表值}} \times 100$ (2)

1.3.3 根系成分测定 接种后 42 d, 调查根系发病情况并取根系, 在 105 杀青 30 min 后, 80 烘干至恒重后, 测定根系成分。采用蒽酮比色法测定根系可溶性糖^[21], 采用茚三酮显色法测定可溶性蛋白质^[21], 采用 Sluiter 法测定木质素含量^[22]。

1.4 数据分析

用 SPSS 11.0 统计软件进行方差分析, 以最小显著差法(Least Significant Difference, LSD)检验显著性, 显著性水平均设为 0.05。

2 结果与分析

2.1 室内接种试验发病情况

出苗后 7 d 接种根肿菌, 在不同生理小种及播种间距处理条件下, 接种 42 d 后感病品种幼苗有根

肿病发生。2 组感、抗根肿病油菜近等基因系(材料)苗期的根肿病发生情况分别见表 1 和表 2。根据各处理的发病率及病情指数值可以发现, 本试验中选用的 2 个根肿菌生理小种均可使感病、抗病油菜品种致病, 且 2 号生理小种的致病性显著强于 4 号生理小种; 同一生理小种在不同感病材料间以及不同抗病材料间的致病性也存在明显差异; 与感病品种(材料)相比, 2 组近等基因系中的抗病品种(材料)均对 2 个生理小种具有明显的抗性。

感、抗根肿病近等基因系混播显著影响感病油菜品种的发病情况。混播后, 感、抗近等基因系中的感病品种的发病率显著降低, 发病等级和病情严重程度均显著低于感病品种单播处理, 2 组感、抗近等基因系的变化趋势一致(表 1 和表 2)。与感病品种单播处理相比, 当感病品种与抗病品种以 0 cm 混播时, 感病品种的发病率最低; 随着感、抗品种的混播间距增大, 感、抗近等基因系中的感病品种的发病率和病情指数下降幅度均呈递减趋势。

表 1 华双 5R 和华双 5 号在各处理下的发病情况
Table 1 Disease incidence and disease index for Huashuang 5R and Huashuang 5 in different treatments

菌种 <i>P. brassicae</i>	处理 Treatment	华双 5R Huashuang 5R						华双 5 号 Huashuang 5					
		发病率 Disease incidence (%)	病情分级 Disease severity scale				病情指数 Disease index	发病率 Disease incidence (%)	病情分级 Disease severity scale				病情指数 Disease index
			0	1	2	3			0	1	2	3	
绩溪 2 号小种 Pathotype 2 from Jixi	CK	5.0 ab	57	0	1	2	4.4 b	100.0 a	0	0	10	50	94.5 a
	T1	3.3 b	58	2	0	0	1.1 d	65.0 c	21	24	9	6	33.3 e
	T2	3.3b	58	1	1	0	1.7 d	95.0 b	3	10	8	39	79.4 d
	T3	3.3 b	58	0	1	1	2.8 c	95.0 b	3	4	7	46	86.7 c
	T4	6.7 a	56	0	1	3	6.1 a	96.7 b	2	4	3	51	90.6 b
	均值 Mean	4.0					3.0	88.0					72.5
恩施 4 号小种 Pathotype 4 from Enshi	CK	1.7 a	59	1	0	0	0.6 a	100.0 a	0	0	17	43	90.6 a
	T1	1.7 a	59	1	0	0	0.6 a	62.5 d	17	18	5	20	34.2 e
	T2	1.7 a	59	1	0	0	0.6 a	80.0 c	12	22	9	17	50.6 d
	T3	1.7 a	59	1	0	0	0.6 a	81.7 c	11	17	8	24	58.3 c
	T4	0.0 b	60	0	0	0	0.0 a	91.7 b	5	16	7	32	70.0 b
	均值 Mean	1.3					0.5	79.0					53.3

CK: 单播; T1、T2、T3 和 T4 分别表示 0、2、4 和 6 cm 4 个混播间距。同一列平均值后的小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
CK: mono-cultivar; T1, T2, T3, and T4 mean four mixed sowing distance of 0, 2, 4, and 6 cm, respectively. Means followed by different lowercase letters in the same column are significantly different at the 0.05 probability level.

表 2 丙 409R 和丙 409 在各处理下的发病情况
Table 2 Disease incidence and disease index of Bing 409R and Bing 409 in different treatments

菌种 <i>P. brassicae</i>	处理 Treatment	丙 409R Bing 409R						丙 409 Bing 409					
		发病率 Disease incidence (%)	病情分级				病情指数 Disease index	发病率 Disease incidence (%)	病情分级				病情指数 Disease index
			Disease severity scale						Disease severity scale				
			0	1	2	3			0	1	2	3	
礼州 2 号小种	CK	16.7 a	51	0	4	5	12.8 a	83.3 a	10	8	12	30	67.8 a
Pathotype 2 from Lizhou	T1	15.0 a	51	2	5	2	10.0 c	70.0 cd	18	9	11	17	48.3 d
	T2	16.7 a	50	4	3	3	10.6 c	73.3 c	16	9	7	28	58.1 c
	T3	15.0 a	51	2	4	3	10.6 c	78.3 b	13	7	14	26	62.8 b
	T4	16.7 a	50	3	3	4	11.7 b	80.0 b	12	6	10	32	67.8 a
	均值 Mean	15.9					10.7	75.4					59.3
歙县 4 号小种	CK	8.3 a	55	3	0	2	5.0 a	100.0 a	0	3	10	47	91.1 a
Pathotype 4 from Shexian	T1	5.0 b	57	2	1	0	2.2 c	43.3 e	34	9	1	16	32.8 d
	T2	6.7 ab	56	1	2	1	4.4 b	48.3 cd	31	12	8	9	30.6 d
	T3	8.3 a	55	1	4	0	5.0 a	50.0 bc	30	6	11	13	37.2 c
	T4	8.3 a	55	1	4	0	5.0 a	51.7 b	29	4	8	19	42.8 b
	均值 Mean	7.1					4.2	48.3					35.9

CK: 单播; T1、T2、T3 和 T4 分别表示 0、2、4 和 6 cm 4 个混播间距。同一列平均值后的字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
CK: mono-cultivar; T1, T2, T3, and T4 mean four mixed sowing distance of 0, 2, 4, and 6 cm, respectively. Means followed by different lowercase letters in the same column are significantly different at the 0.05 probability level.

2.2 各品种根系成分差异

接种 42 d 后, 取样测定各处理的根系主要成分 (表 3 和表 4)。与未接种处理相比, 感病品种单播且

接种处理的根系可溶性糖和蛋白质含量均显著增加, 抗病品种单播且接种处理的根系可溶性蛋白质含量增加, 可溶性糖含量下降; 接种后, 与各品种单播

表 3 华双 5R 和华双 5 号在不同处理下根系成分的变化
Table 3 Root biochemistry components variation of Huashuang 5R and Huashuang 5 in different treatments

菌种 <i>P. brassicae</i>	距离 Distance	可溶性糖		可溶性蛋白质		酸溶木质素		酸不溶木质素	
		Soluble sugar (mg g ⁻¹)		Soluble protein (mg g ⁻¹)		Acid soluble lignin (%)		Acid insoluble lignin (%)	
		华双 5R	华双 5 号	华双 5R	华双 5 号	华双 5R	华双 5 号	华双 5R	华双 5 号
		Huashuang 5R	Huashuang 5	Huashuang 5R	Huashuang 5	Huashuang 5R	Huashuang 5	Huashuang 5R	Huashuang 5
绩溪 2 号小种 Pathotype2 from Jixi	NI	37.01 a	25.60 c	4.87 c	2.67 e	1.86 b	1.26 c	19.57 a	18.99 a
	CK	12.45 b	45.98 b	7.16 b	8.90 c	1.17 bc	1.90 bc	16.34 b	17.92 b
	T1	12.81 b	26.82 c	3.97 d	4.50 d	1.34 bc	2.00 b	18.41 a	15.80 c
	T2	12.13 b	54.64 a	4.15 cd	12.70 b	2.93 a	2.87 a	14.72 c	15.41 c
	T3	10.04 c	55.28 a	3.79 d	19.70 a	2.98 a	3.28 a	15.24 c	15.43 c
	T4	7.95 d	55.84 a	9.43 a	20.81 a	3.04 a	3.17 a	13.65 d	15.43 c
恩施 4 号 Pathotype 4 from Enshi	NI	37.01 a	25.60 d	4.87 d	2.67 c	1.86 b	1.26 de	19.57 a	18.99 a
	CK	27.21 b	43.85 a	10.81 a	12.05 a	1.63 b	1.63 cd	17.30 b	18.16 b
	T1	20.68 c	17.40 e	6.77 c	2.80 d	1.11 c	2.11 bc	17.60 b	18.13 b
	T2	15.07 d	33.26 c	8.63 b	5.30 c	2.76 a	2.79 b	16.08 c	15.21 c
	T3	10.91 e	35.40 b	8.99 b	5.06 c	2.75 a	3.56 a	15.78 c	15.93 c
	T4	7.01 f	36.78 b	9.30 b	7.49 b	2.90 a	3.74 a	14.43 d	15.45 c

NI: 未接种; CK: 单播; T1、T2、T3 和 T4 分别表示 0、2、4 和 6 cm 4 个混播间距。同一列平均值后的字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
NI: not inoculation; CK: mono-cultivar; T1, T2, T3, and T4 mean four mixed sowing distance of 0, 2, 4, and 6 cm, respectively. Means followed by different lowercase letters in the same column are significantly different at the 0.05 probability level.

表 4 丙 409R 和丙 409 在不同处理下根系成分的变化
Table 4 Root biochemistry components of Bing 409R and Bing 409 in different treatments

菌种 <i>P. brassicae</i>	距离 Distance	可溶性糖		可溶性蛋白质		酸溶木质素		酸不溶木质素	
		Soluble sugar (mg g ⁻¹)		Soluble protein (mg g ⁻¹)		Acid soluble lignin (%)		Acid insoluble lignin (%)	
		丙 409R Bing 409R	丙 409 Bing 409	丙 409R Bing 409R	丙 409 Bing 409	丙 409R Bing 409R	丙 409 Bing 409	丙 409R Bing 409R	丙 409 Bing 409
礼州 2 号小种 Pathotype 2 from Lizhou	NI	33.46 a	35.64 d	3.22 d	8.30 ab	1.87 bc	1.50 d	15.73 a	16.10 a
	CK	31.69 b	55.76 a	9.37 a	5.35 c	2.50 ab	3.14 a	14.76 b	13.44 d
	T1	16.10 c	25.90 f	6.59 c	8.64 ab	1.32 c	1.61 d	15.83 a	15.00 b
	T2	15.83 cd	32.38 e	8.34 b	8.90 a	2.48 ab	3.04 a	14.00 b	13.55 d
	T3	14.51 d	43.26 c	8.68 b	9.73 a	2.80 a	2.35 bc	14.43 b	14.98 b
歙县 4 号小种 Pathotype 4 from Shexian	T4	14.07 d	50.71 b	7.13 bc	9.39 a	2.92 a	2.83 ab	10.66c	14.26 c
	NI	33.46 a	35.64 e	3.22 d	8.30 b	1.87 b	1.50 c	15.73 b	16.10 a
	CK	16.82 b	66.57 b	5.23 bc	15.50 a	3.22 a	2.74 ab	15.44 b	15.17 b
	T1	16.27 b	39.60 d	3.42 d	8.87 b	1.86 b	1.52 c	16.45 a	14.67 b
	T2	15.68 c	48.43 c	5.75 b	4.83 c	3.15 a	3.31 a	13.88 c	12.28 c
	T3	12.55 d	49.88 c	11.33 a	3.54 d	3.15 a	2.71 ab	11.09 d	10.79 d
	T4	11.50 e	76.25 a	2.99 d	2.54 d	3.44 a	3.21 a	11.57 d	11.83 c

NI: 未接种; CK: 单播; T1、T2、T3 和 T4 分别表示 0、2、4 和 6 cm 4 个混播间距。同一列平均值后的字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
NI: not inoculation; CK: mono-cultivar; T1, T2, T3, and T4 mean four mixed sowing distance of 0, 2, 4, and 6 cm, respectively. Means followed by different lowercase letters in the same column are significantly different at the 0.05 probability level.

相比, 感、抗品种混播后, 各处理的根系可溶性糖和可溶性蛋白质含量均呈下降趋势。总木质素含量包括酸溶木质素和酸不溶木质素, 酸不溶木质素是主要成分。与未接种处理相比, 接种后的单播华双 5R (抗病)根系酸不溶木质素和酸溶木质素均降低, 单播丙 409R (抗病)根系酸不溶木质素降低, 酸溶木质素增加; 接种后的单播华双 5 号(感病)和丙 409 (感病)根系酸溶木质素均增加, 酸不溶木质素均降低。2 组近等基因系混播后接种, 各混播处理中的抗病品种和感病品种的总木质素含量整体呈上升趋势。

对接种后的所有处理的根系主要成分与发病率和病情指数进行相关性分析发现, 油菜根肿病发病率和病情指数与根系可溶性糖、可溶性蛋白呈极显著正相关; 酸溶木质素和酸不溶木质素与发病率及病情指数呈正相关, 但未达显著水平(表 5)。

表 5 接种后根系成分与发病率及病情指数的相关性分析
Table 5 Correlation analysis among the root biochemistry components, disease incidence and disease index after inoculation

指标 Parameter	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白质 Soluble protein	酸溶木质素 Acid soluble lignin	酸不溶木质素 Acid insoluble lignin	总木质素 Total lignin
发病率 Disease incidence	0.797**	0.403**	0.177	0.089	0.165
病情指数 Disease index	0.822**	0.509**	0.176	0.074	0.164

**表示在 0.01 水平差异显著。 $n = 40$, $R_{0.05} = 0.312$, $R_{0.01} = 0.403$.
** indicate significantly different at the 0.01 probability level. $n = 40$, $R_{0.05} = 0.312$, $R_{0.01} = 0.403$.

3 讨论

3.1 本研究的材料选用

本研究中选用的试验材料为 2 组抗根肿病油菜近等基因系, 除抗根肿病基因外, 其他遗传背景和农艺性状相近。因此, 用其作试验材料, 感、抗品种(材料)生长整齐一致, 在接种根肿菌后, 发病率的调查以及根系成分的测定, 可排除其他因素如生长差异等的干扰, 从而更容易研究感、抗品种(材料)的混播效应。

3.2 感、抗近等基因系混播在油菜根肿病防治上的潜在应用价值

国内外很多研究表明, 寄主的多样性有利于寄主与病原菌群体之间的协同进化, 对病原物群体产生稳定化选择, 进而使得病原物群体处于一个稳定

状态,避免新的优势病原菌出现。利用多系品种防控病害一直是国内外植物病害防治研究的热点,如小麦条锈病^[14]、水稻稻瘟病^[15]等。这些研究里多以几个抗性品种混播为主控制气传性病害,并取得了较好的防治效果。Hariri 等^[23]利用1个感病品种和1个抗病品种以1:1和1:3的比例混播,均减轻了土传小麦花叶病的感染率。

本研究团队2017—2018年度大田混播试验研究发现,混播能显著改善根肿病病情,田间实际发病率均小于理论发病率^[20]。本文盆栽试验结果也表明,混播中感病品种的发病率及病情指数显著低于感病品种单播,表明感、抗品种混播可以作为防治油菜根肿病的策略之一。此外,本研究结果表明,与单播相比,在0 cm混播间距下,2组感病品种的发病率及病情严重程度下降幅度最大,且随着感、抗品种的混播间距增大,发病率和病情严重程度呈递增趋势。说明实际生产中,要求将感、抗品种混匀后均匀播种,可起到较好的效果。

3.3 感抗品种混播减轻根肿病为害的可能机制

混播控制病害发生的机制有密度效应^[16]、阻挡效应^[17]和抗性诱导效应^[18]3种。根肿菌休眠孢子在土壤中存活时间长,寄主和非寄主作物均能诱导休眠孢子萌发,这种萌发刺激作用被认为是根系分泌物引起的^[24-25]。研究表明,种植抗病品种能减轻后茬感病油菜品种病害严重程度^[26]。说明抗病品种启动了抗性品种的免疫反应,寄主与根肿菌互作引起根系分泌某些初生或次生代谢物质到土壤中,这些物质可能对后茬感病寄主有利。鉴于这些代谢物质的扩散范围有限,所以在本研究中,密度更有可能是决定病害发生重要因素。试验结果证实,以0 cm混播间距下对根肿病防控效果最好,我们推测邻近的感、抗品种在相互作用影响下,给予根肿病菌较小的选择压。

在根肿菌接种量 10^7 孢子 mL^{-1} 范围内,混播中的抗病品种的发病情况稳定,其中华双5R(高抗)与对照无显著差异,丙409R(中抗)的发病情况较对照降低。2个抗病品种间的表现差异与各自抗病位点不同有关。华双5R和丙409R的抗性均表现为质量性状抗性,对根肿菌生理小种具有专化抗性,只对优势4号小种有抗性。专一抗性持久性会受到根肿菌致病型的种类、数量及根肿病相对流行程度的影响。通过Williams系统鉴定出我国至少8种不同的根肿菌生理小种(1号、2号、4号、7号、9号、10

号、11号和13号),其中4号为优势生理小种。抗性品种抗性的持久性会随着病源区生理小种的变化而变化。前人经验也表明抗病品种的抗性存在丧失迹象^[27]。为了维持抗性品种的抗性,抗性品种至少轮作3年^[28]。这明显降低了农业生产经济效益,所以从长远意义来看,感、抗品种混播可能会调整根肿菌生理小种群结构,维持主要的优势小种,减缓其他混生小种的变异速度,最终减缓抗性品种的抗性丧失速度。这种猜想还有待进一步深入研究。

3.4 混播群体根系成分的变化

不同的十字花科寄主对根肿病的抗性反应不同,对根肿病侵染的反应也存在差异。感病品种的可溶性糖和可溶性蛋白质含量较抗病品种显著增加^[29-30],这与本研究结果一致。Siemens 等^[31]比较了感染根肿菌的拟南芥与健壮株在转录组上的差异,结果发现,淀粉、糖、脂质、次生代谢物、营养元素(N、P、S)以及参与细胞分裂及伸长的相关基因在感染植株的根部上调,相关防御蛋白基因下调。蛋白质组分析发现,甘蓝型油菜的根部在侵染早期阶段有20种蛋白质表现差异,包括参与木质素合成蛋白、细胞分裂素代谢蛋白、糖酵解蛋白、细胞内钙调蛋白和活性氧蛋白^[32]。

本试验的相关性分析表明,病情指数与可溶性糖含量和可溶性蛋白质含量呈极显著正相关。根肿菌在寄主根皮层增殖并消耗营养物质,影响根部生长激素代谢失衡,如生长素和细胞分裂素,最终根部肿大形成根瘤^[31,33]。根瘤因此成为一个代谢库,改变了正常的源-库关系,在生长素的调控作用下促使地上部的糖类和蛋白质被重新分配到根肿组织中^[33]。近等基因系混播与单播的根系成分变化趋势相反,前者降低了根中可溶性糖和可溶性蛋白质含量,可能是混播中抗病品种启动免疫反应,根系分泌出某种化感物质对邻近的感病品种起到促进作用,如调控根中植物生长激素的变化,维持根细胞正常生长,最后发病率降低;又或者是对根肿菌起到抑制作用。

4 结论

感、抗品种混播是防治作物病害发生的举措之一。本研究选用2组感、抗近等基因系,发现油菜感、抗品种混播可以显著降低感病品种的根肿病发病率,且混播间距在0 cm时效果最好。混播与单播相比,感病品种根系中可溶性糖及可溶性蛋白质含

量均显著降低, 酸不溶木质素含量显著增加。该技术可以作为油菜根肿病防控的技术措施, 在根肿病发病区域油菜生产上有着较好的应用前景。

References

- [1] Dixon G R. Clubroot (*Plasmodiophora brassicae* Woronin)—an agricultural and biological challenge worldwide. *Can J Plant Pathol*, 2014, 36: 5–18.
- [2] Howard R, Strelkov S E, Harding M. Clubroot of cruciferous crops—new perspectives on an old disease. *Can J Plant Pathol*, 2010, 32: 43–57.
- [3] Dixon G R. The occurrence and economic impact of *Plasmodiophora brassicae* and clubroot disease. *J Plant Growth Regul*, 2009, 28: 194–202.
- [4] Pageau D, Lajeunesse J, Lafond J. Impact of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) on the yield and quality of canola. *Can J Plant Pathol*, 2006, 28: 137–143.
- [5] Peng G, Pageau D, Strelkov S E, Grossen B D, Hwang S F, Lahlali R. A >2-year crop rotation reduces resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in soil and the impact of clubroot on canola. *Eur J Agron*, 2015, 70: 78–84.
- [6] Friberg H, Lagerlöf J, Rämert B. Germination of *Plasmodiophora brassicae* resting spores stimulated by a non-host plant. *Eur J Plant Pathol*, 2005, 113: 275.
- [7] 许倩倩. 水杨酸(SA)和苯并噻二唑(BTH)对甘蓝根肿病抗性相关生理指标的影响. 西南大学硕士学位论文, 重庆, 2015.
Xu Q Q. Effects of Salicylic Acid and Benzothiadiazole on Related Physiological Indicators for Cabbage Clubroot Resistance. MS Thesis of Southwest University, Chongqing, China, 2015 (in Chinese with English abstract).
- [8] 于晓坤, 吴毅歆, 毛自朝, 何月秋. 水介导十字花科作物根肿病的传播及其化学防治. 华中农业大学学报, 2013, 32(1): 48–53.
Yu X K, Wu Y X, Mao Z C, He Y Q. Water-mediated dissemination and chemical control of clubroot disease of cruciferous crops. *J Huazhong Agric Univ*, 2013, 32(1): 48–53 (in Chinese with English abstract).
- [9] 杨进, 殷丽琴, 王晓, 付绍红, 王学贵, 李云, 王继胜, 邹琼, 陶兰荣, 康泽明, 唐蓉. 4种杀菌剂对油菜根肿病的防治潜力及对幼苗防御酶活性的影响. 中国油料作物学报, 2017, 39: 546–550.
Yang J, Yin L Q, Wang X, Fu S H, Wang X G, Li Y, Wang J S, Zou Q, Tao L R, Kang Z M, Tang R. Preventive potential of 4 fungicides on clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) and rapeseed defense enzyme activity. *Chin J Oil Crop Sci*, 2017, 39: 546–550 (in Chinese with English abstract).
- [10] 费维新, 王淑芬, 胡宝成, 李强生, 侯树敏, 荣松柏, 吴晓芸. 不同杀菌剂对油菜根肿病的防效及对油菜产量损失的影响. 植物保护, 2015, 41(1): 201–204.
Fei W X, Wang S F, Hu B C, Li Q S, Hou S M, Rong S B, Wu X Y. Control effect of different fungicides on clubroot and yield loss caused by *Plasmodiophora brassicae* in *Brassica napus*. *Plant Prot*, 2015, 41(1): 201–204 (in Chinese with English abstract).
- [11] 陈坤荣, 任莉, 刘凡, 徐理, 孙超超, 方小平. 三种杀菌剂防治油菜根肿病技术研究. 中国油料作物学报, 2013, 35: 424–427.
Chen K R, Ren L, Liu F, Xu L, Sun C C, Fang X P. Controlling effects of three fungicides on rapeseed clubroot. *Chin J Oil Crop Sci*, 2013, 35: 424–427 (in Chinese with English abstract).
- [12] 王靖, 黄云, 张艳, 姚佳. 油菜根肿病菌拮抗微生物的筛选及其防治效果测定. 中国油料作物学报, 2011, 33: 169–174.
Wang J, Huang Y, Zhang Y, Yao J. Control of rapeseed clubroot by screened antagonistic against *Plasmodiophora brassicae*. *Chin J Oil Crop Sci*, 2011, 33: 169–174 (in Chinese with English abstract).
- [13] Diederichsen E, Frauen M, Ludwig-Müller J. Clubroot disease management challenges from a German perspective. *Can J Plant Pathol*, 2014, 36: 85–98.
- [14] 吕学静, 康晓慧, 陈万权, 刘太国, 刘博, 高利. 小麦近等基因系多品种混播对条锈病控制效果研究. 中国植保导刊, 2014, 34(4): 5–9.
Lyu X J, Kang X H, Chen W Q, Liu T G, Liu B, Gao L. Controlling efficiency against wheat stripe rust by near-isogenic lines cultivars at mix-planting condition. *China Plant Prot*, 2014, 34(4): 5–9 (in Chinese with English abstract).
- [15] 刘志贤, 肖一龙, 刘二明, 罗峰. 利用水稻品种抗性遗传多样性持续控制稻瘟病研究进展. 作物研究, 2003, 17(2): 103–105.
Liu Z X, Xiao Y L, Liu E M, Luo F. Advances in sustainable control of rice blast by using composite varieties resistant to different physiologic race blast diseases. *Crop Res*, 2003, 17(2): 103–105 (in Chinese with English abstract).
- [16] Burdon J J, Chilvers G A. Host density as a factor in plant disease ecology. *Annu Rev Phytopathol*, 1982, 20: 143–166.
- [17] Trenbath B R. Interactions among diverse host and diverse parasites. *Ann NY Acad Sci*, 2010, 287: 124–150.
- [18] Zhu Y Y, Chen H R, Fan J H, Wang Y Y, Li Y, Chen J B, Fan J X, Yang S S, Hu L P, Leung H, Mew T W, Teng P S, Wang Z H, Mundt C C. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, 2000, 406: 718–722.
- [19] 李宁. 寄主多样性条件下小麦白粉病发生及其病原菌群体遗传结构的研究. 中国农业科学院硕士学位论文, 北京, 2011.
Li N. Occurrence of Wheat Powdery Mildew in Diversified Hosts and the Pathogen Population Genetic Structure. MS Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China, 2011 (in Chinese with English abstract).
- [20] 郭清云, 汪波, 蒯婕, 张椿雨, 李根泽, 康惠仙, 傅廷栋, 周广生. 油菜感抗品种混播对根肿病防控效果的影响. 作物学报, 2020, 46: 751–759.
Guo Q Y, Wang B, Kuai J, Zhang C Y, Li G Z, Kang H X, Fu T D, Zhou G S. Controlling efficiency against clubroot disease of rapeseed by mixed-cropping of susceptible and resistant cultivars. *Acta Agron Sin*, 2020, 46: 751–759 (in Chinese with English abstract).
- [21] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. pp 192–196.
Li H S. Principles and Techniques of Plant Physiological and

- Biochemical Experiments. Beijing: Higher Education Press, 2000. pp 192–196 (in Chinese).
- [22] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory Analytical Procedure, 2008, 1617: 1–16.
- [23] Hariri D, Fouchard M, Prud'homme H. Incidence of soil-borne wheat mosaic virus in mixtures of susceptible and resistant wheat cultivars. *Eur J Plant Pathol*, 2001, 107: 625–631.
- [24] Rashid A, Ahmed H U, Xiao Q, Hwang S F, Strelkov S E. Effects of root exudates and pH on *Plasmodiophora brassicae* resting spore germination and infection of canola (*Brassica napus* L.) root hairs. *Crop Prot*, 2013, 48: 16–23.
- [25] Ahmed H U, Hwang S F, Strelkov S E, Gossen B D, Peng G, Howard R J, Turnbull G D. Assessment of bait crops to reduce inoculum of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) of canola. *Can J Plant Sci*, 2011, 91: 545–551.
- [26] Hwang S F, Ahmed H U, Zhou Q, Rashid A, Strelkov S E, Gossen B D, Peng G, Turnbull G D. Effect of susceptible and resistant canola plants on *Plasmodiophora brassicae* resting spore populations in the soil. *Plant Pathol*, 2013, 62: 404–412.
- [27] LeBoidus J M, Manolii V P, Turkington T K, Strelkov S E. Adaptation to *Brassica* host genotypes by a single-spore isolate and population of *Plasmodiophora brassicae* (clubroot). *Plant Dis*, 2012, 96: 833–838.
- [28] Turkington T K. Progress towards the sustainable management of Clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) of Canola on the Canadian prairies. *Electr Eng Jpn*, 2011, 125: 553–556.
- [29] Ren Z, Zhou H, Huang X L, Song Q, Liu M J, Liu E M. Change of 3 kinds of enzyme activity and soluble sugar in 3 Chinese cabbage varieties with different resistance level during the process of *Plasmodiophora brassicae* infecting their roots. *Agric Sci Technol*, 2015, 217: 205–208.
- [30] 马丹丹. 甘蓝类蔬菜根肿病抗性鉴定及相关生理生化的研究. 石河子大学硕士学位论文, 新疆石河子, 2015.
- Ma D D. Study of Resistance Identification for Clubroot and the Related Analysis of Physiological and Biochemical Mechanism in Different *Brassica* crops. MS Thesis of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, China, 2015 (in Chinese with English abstract).
- [31] Siemens J, Keller I J, Sarx J, Kunz S, Schuller A, Nagel W, Schmülling T, Parniske M, Ludwig-Müller J. Transcriptome analysis of *Arabidopsis* clubroot indicate a key role for cytokinins in disease development. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2006, 19: 480–494.
- [32] Cao T, Srivastava S, Rahman M H, Kav N V, Hotte N, Devholos M K, Strelkov S E. Proteome-level changes in the roots of *Brassica napus* as a result of *Plasmodiophora brassicae* infection. *Plant Sci*, 2008, 174: 97–115.
- [33] Ludwig-Müller J, Prinsen E, Rolfe S A, Scholes J D. Metabolism and plant hormone action during clubroot disease. *J Plant Growth Regul*, 2009, 28: 229–244.