

杜 艳,刘卹洲,李建斌,等. 十字花科根肿病研究现状及展望[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):122-126.

# 十字花科根肿病研究现状及展望

杜 艳<sup>1</sup>, 刘卹洲<sup>1</sup>, 李建斌<sup>2</sup>, 乔俊卿<sup>1</sup>, 王神云<sup>2</sup>, 梁雪杰<sup>1</sup>

(1. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏南京 210014; 2. 江苏省农业科学院蔬菜研究所, 江苏南京 210014)

**摘要:**十字花科根肿病是一种世界性的重要病害,一直是国内外研究的热点。概述了该病原菌的生活史、分子检测、分子致病机理及根肿病防治等研究现状,并对其研究趋势进行了展望,以期为我国十字花科根肿病的防治提供参考。

**关键词:**十字花科;根肿病;芸薹根肿菌;致病机理;防治

**中图分类号:** S432.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0122-05

十字花科根肿病是由芸薹根肿菌(*Plasmodiophora brassicae* Woronin)侵染引起的一种重要土传病害。除了危害十字花科作物油菜、甘蓝、白菜等外,还危害十字花科野生植物荠菜等。根肿病最早发现于地中海西岸(英国,1736),尔后在前苏联(1872)发现。目前几乎每个栽培十字花科作物的国家和地区都有该病的发生,全球范围内所造成的作物产量损失占总产量的 10%~15%<sup>[1]</sup>。近年来,根肿病在我国东北、山东青岛、长江中上游以及西南等地迅速扩大,常年危害面积高达 320 万~400 万 hm<sup>2</sup>,占十字花科作物种植面积的 1/3 以上<sup>[2-3]</sup>。随着十字花科作物种植面积的不断扩大,根肿病给我国十字花科作物的安全生产带来严重威胁。本文结合国内

外研究现状对根肿病作了概述,以期对十字花科根肿病的防治提供参考。

## 1 芸薹根肿菌的生物学特性

### 1.1 芸薹根肿菌的分类地位

芸薹根肿菌(*P. brassicae*)由俄国学者 Woronin 首次发现并命名<sup>[4]</sup>。对于芸薹根肿菌的分类地位,一直备受争议。Hawksworth 等将其归为真菌界黏菌门根肿菌纲<sup>[5]</sup>,而 Alexopoulos 和 Mims 将其划分到真菌界鞭毛菌亚门根肿菌属<sup>[6]</sup>。目前公认的观点是将根肿菌归到原生动物界根肿菌门根肿菌纲根肿菌属<sup>[7]</sup>。

### 1.2 根肿菌的形态特征

根肿菌的休眠孢子囊在寄主根部薄壁组织细胞内形成,球形或扁圆形、单胞、无色或略带灰色,大小 1.6~4.6 μm,常密集呈鱼卵状<sup>[2]</sup>。休眠孢子表面有刺状突起,扫描电镜下观察发现不同寄主休眠孢子的形态和大小略有差异。例如:油菜根肿菌休眠孢子平均大小 3.5 μm<sup>[8]</sup>;甘蓝根肿菌休眠孢子平均大小 2.5 μm<sup>[9]</sup>;小白菜根肿菌休眠孢子平均大小 2.8 μm<sup>[10]</sup>。不同寄主游动孢子的形态和大小也略有不同,扫描电镜下观察游动孢子纺锤形或梨形,大小 2.8~

收稿日期:2014-03-19

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(14)2058];江苏省自然科学基金青年基金(编号:BK20140748)。

作者简介:杜 艳(1984—),女,安徽阜阳人,博士,助理研究员,从事园艺作物病害及其生物防治研究。E-mail: dy411246508@126.com。

通信作者:刘卹洲,博士,副研究员,从事园艺作物病害生物防治研究。Tel: (025)84390228; E-mail: shitouren88888@163.com。

种衣剂中,除吉林省八达农药有限公司生产的 400 g/L 福·萎悬浮种衣剂在试验处理剂量 200 g 拌 100 kg 种子的情况下对玉米丝黑穗病的防效不理想,仅为 49.61% 外,其余 8 种玉米种衣剂对玉米丝黑穗的防效均显著;BASF(中国)有限公司生产的 300 g/L 灭菌唑悬浮种衣剂防效最好,拜耳作物科学(中国)有限公司生产的 2% 戊唑醇湿拌种剂次之,拜耳作物科学(中国)有限公司生产的 60g/L 戊唑醇悬浮种衣剂再次之,其后依次为吉林省八达农药有限公司生产的 6% 甲霜灵·戊唑醇悬浮种衣剂、吉林省八达农药有限公司生产的 6% 戊唑醇悬浮种衣剂、安徽省六安市种子分公司安丰种衣剂厂生产的 11% 戊唑·福美双悬浮种衣剂、吉农高薪股份有限公司农药分公司生产的 17% 克·福·唑醇悬浮种衣剂、邳州市金地农化有限公司生产的 20.6% 丁硫·福·戊悬浮种衣剂。

## 3.2 讨论

综上所述,除吉林省八达农药有限公司生产的 400 g/L 福·萎悬浮种衣剂因防效较低,最好不要用于防治丝黑穗病

以外,其他 8 种种衣剂均有很好的增产效果,且对作物安全。其中 BASF(中国)有限公司生产的 300g/L 灭菌唑悬浮种衣剂在试验处理剂量 200 mL 拌 100 kg 种子的情况下,对玉米丝黑穗病的防效最为好,应当成为当前种子生产部门的首选。

本试验所比较的药剂均为三唑类杀菌剂,而研究表明,三唑类杀菌剂对作物出苗及生长有一定的抑制作用,如遇低温、多雨年份,应根据情况调整播期,适当晚播,并且严格按照规定的剂量使用。因本试验所比较的药剂有的含有其他成分,对地下害虫、茎基腐病也有效果,使用时应根据本地病虫害情况适当选用。

## 参考文献:

- [1] 董金皋. 农业植物病理学 北方本[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [2] 李金玉. 种衣剂良种包衣技术要点[J]. 农药,1999,38(6):38-40.
- [3] 刘志恒. 玉米丝黑穗病[J]. 新农业,2003(8):40-41.

5.9  $\mu\text{m}$ , 同侧着生不等长的双鞭毛<sup>[11]</sup>。另外, 黄云等在观察油菜根肿菌游动孢子的形态及变化过程时, 首次观察到侵入结构管腔<sup>[8]</sup>。

### 1.3 根肿菌的生活史及病害发生规律

根肿病菌生活史包括 3 个阶段: 休眠孢子、根毛侵染和皮层侵染(图 1)<sup>[12]</sup>。休眠孢子黏附在种子或带有病残体的土壤及未腐熟的厩肥中越冬。在条件适宜时, 休眠孢子萌发释放一个椭圆形或者梨形双鞭毛的游动孢子, 称为初级游动孢子。这些初级游动孢子到达寄主根毛, 穿透根毛细胞壁, 并在其内部形成初生原质团, 初生原质团分裂形成游动孢子囊, 每个游动孢子囊含有 4~16 个次级游动孢子, 该阶段称为初级侵染阶段。随后, 次级游动孢子释放到土壤中, 继而侵入根表皮, 并在根表皮细胞内定殖, 形成大量的次级原质团, 次级原质团经减数分裂形成数百万个休眠孢子, 此时根部肿大形成根瘤, 称为次级侵染阶段。当根肿组织分解后, 这些休眠孢子又释放到土壤中, 从而完成整个侵染循环过程。当环境条件适宜时, 休眠孢子萌发进行再侵染。在这一系列过程中, 休眠孢子是如何聚集到根部, 初级游动孢子能否直接侵入寄主根表皮细胞, 次级游动孢子能否再分化形成初级原生质团, 为何存在初级侵染和次级侵染 2 个阶段等问题仍然不清楚。

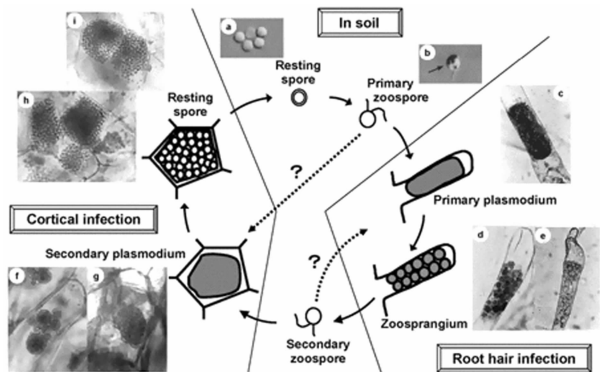


图1 根肿菌的生活史(引用自文献[12])

一般认为土壤酸碱度和温湿度与根肿病的发生非常密切。根肿病发病的适宜土温在 18~25  $^{\circ}\text{C}$ , 土壤 pH 值在 5.8~6.5, 土壤湿度在 60% 以上<sup>[13]</sup>。发病程度与当年的温度、降雨和土壤 pH 值等因素有关, 其中温度对根肿病的发生至关重要。当温度低于 12  $^{\circ}\text{C}$  或者高于 25  $^{\circ}\text{C}$  时, 不利于根肿病的发生<sup>[14-15]</sup>。Buczacki 等认为播种后第 2 周和第 3 周的温度和光照水平对根肿病的发生影响最大<sup>[16]</sup>。Sharma 研究发现不同温度条件影响根肿菌侵染寄主, 而且发病的严重程度与温度有显著的相关性<sup>[17-18]</sup>。

## 2 根肿菌的生理小种鉴定

根肿菌的生理小种鉴定直接关系到根肿病抗病品种的有效选育, 因此国际上一直非常重视根肿菌生理小种的划分和鉴定。1931 年, Honig 最先发现不同来源的根肿菌引起的寄主反应存在显著差异, 证实根肿菌存在小种分化<sup>[19]</sup>。1965 年, Williams 采用 2 个结球甘蓝品种 Jersey Queen 和 Badger Shipper 以及 2 个芜菁甘蓝品种 Laurentian 和 Wilhelmsburger 对多个国家的根肿菌小种进行鉴定, 正式提出 Williams 鉴别

系统<sup>[20]</sup>。随后, Buczacki 等选用国际上不同研究小组的寄主材料于 1975 年建立了一套 ECD (European clubroot differential set) 鉴别系统<sup>[21]</sup>。该系统由 *B. rapa* L. Sensu lato ( $2n=20$ )、*B. napus* L. ( $2n=38$ ) 和 *B. oleracea* L. ( $2n=18$ ) 3 组十字花科芸薹属寄主组成。自此, Williams 和 ECD 这 2 套鉴别系统逐渐在欧洲、美国、加拿大、日本、中国等国家应用和推广。然而, 这 2 套鉴别系统各有优缺点。Williams 鉴别系统具有鉴别寄主少、容易理解、操作方便等优点, 但是对个别小种无法明确鉴定, 应用时存在一定的局限性。ECD 系统虽然对生理小种划分相对准确, 但是对鉴别寄主要求高, 工作量大且命名复杂, 不适于抗病品种的选育。而且, 该系统多数寄主是欧洲油菜品种, 在亚洲适用较为困难。此外, 国际上还有 some<sup>[22]</sup> 和 Kuginuki<sup>[23]</sup> 2 套鉴别系统, 由于其适用范围窄, 目前应用较少<sup>[24]</sup>。因此, 有必要完善和改进根肿菌生理小种鉴定系统, 从而建立一套更加精确的、科学的、适合我国致病力分化特点的生理小种鉴定系统, 以满足我国对该病防控的需要。

## 3 根肿菌的分子生物学研究进展

### 3.1 根肿菌的分子检测

分子生物学的发展为植物病害诊断提供了重要的技术手段。1999 年, Ito 等首次将 PCR (polymerase chain reaction) 技术应用到根肿菌的检测<sup>[25]</sup>。Manzanares 等绘制了不同根肿病菌单孢分离菌株的 RAPD 图谱, 发现同属某一特殊类型的病原菌 (P1) 有共同的分子标记 - PL14 (1200)<sup>[26]</sup>。Cao 等设计 1 对特异性引物检测出土壤含量低于 103 个/g 的休眠孢子以及被侵染 3 d 后根组织中的病原菌<sup>[27]</sup>。由于该引物快捷、简便、特异性强, 目前被广泛应用于根肿菌的检测。

近年来, 陆续发展的新技术 (包括巢式 PCR、Real-Time PCR 技术等) 也被用于根肿菌的检测和鉴定。Wallenhammar 等成功利用巢式 PCR 对天然病土进行检测<sup>[28]</sup>。Sundelin 等利用根肿菌侵染后产生的特异性脂肪酸——花生四烯酸 (20:4), 对土壤及植物组织中的根肿菌进行定量检测<sup>[29]</sup>。Wallenhammar 等又利用荧光定量 PCR 技术检测出土壤中有休眠孢子 3 000 个/g<sup>[30]</sup>。目前, 国内在根肿菌分子检测方面也取得了较快的进展。杨佩文等设计了 1 对核糖体基因 ITS 区段的特异性引物, 成功用于不同寄主根肿菌的检测<sup>[31]</sup>。尹全等根据 GenBank 上已发表的根肿病菌基因片段序列设计了 1 对特异性引物, 有效、快速地检测病原菌<sup>[32]</sup>。李金萍等通过荧光定量 PCR 的方法检测出土壤中有休眠孢子 1 000 个/g<sup>[33]</sup>。这些分子检测技术为精确预测田间病害的发生趋势、病菌分布及病害防治提供了可靠的依据。

### 3.2 根肿菌的分子致病机理

根肿菌是一种非常重要的专性寄生致病菌, 明确其致病分子机理, 对培育抗性新品种及病害防治具有重要意义。由于病原菌基因组信息相当少, GenBank 数据库仅公布了根肿菌的 200 多个核苷酸序列。Bulman 等利用 SSH 技术 (suppression subtractive hybridization) 和 RACE (rapid amplification of cDNA ends) 技术成功克隆了 76 个基因的全长或部分序列<sup>[34]</sup>。目前, 已报道的一些功能基因包括 *Y10*、*PbTPS*、*PbST-KLI*、*PbBrip9*、*PbCC249*、*PRO1*<sup>[35]</sup>。Ito 等首次利用 RNA 指纹技术 (RNA finger printing) 和 Northern blot 技术, 分离和克隆

到 1 个在根肿菌营养生长阶段特异表达的基因 *Y10*<sup>[36]</sup>。Brodmann 等研究发现根肿菌侵染寄主时,其海藻糖-6-磷酸合成酶(由 *PbTps* 编码)生成大量的海藻糖,影响寄主植物的代谢和生长<sup>[37]</sup>。随着现代分子生物技术的发展,人们通过各种方法寻找侵染过程中的差异表达基因。Ando 等利用差异筛选分析法(Differential display analysis)鉴定到 1 个 *PbST-KLI* 基因,该基因编码类丝氨酸/苏氨酸激酶,在根肿菌侵染寄主 30 d 后表达量显著增加<sup>[38]</sup>。Siemens 等通过选取不同的侵染点,检测了 12 个 cDNAs 的表达,结果发现 *PbBrip9* 和 *PbCC249* 在根肿菌侵染寄主过程中显著表达<sup>[39]</sup>。最近,Feng 等鉴定并克隆到 1 个丝氨酸蛋白酶 *Pro1*,该蛋白属于 S28 蛋白酶家族,具有蛋白酶水解活性,能够促进休眠孢子的萌发<sup>[40]</sup>。随后,Feng 等又利用 Dot blot 和 Real-time PCR 分析比较,发现在根肿菌次级游动孢子阶段存在着许多上调和下调表达的基因,进一步阐明了根肿菌存在初级侵染和次级侵染 2 种不同的侵染机制<sup>[41]</sup>。最近,Feng 等在根肿菌分子致病机理方面又有了新的突破<sup>[42]</sup>。首次通过 PEG 介导的方法将绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)导入根肿菌菌株中并进行了 PCR 验证,转化效率约达到 50%,但转化菌株中未观察到绿色荧光。近年来,国内外虽然在根肿病分子致病机理方面的研究有所进展,但是对致病相关基因报道的较少,特别是在侵染过程中如何表达和调控的仍不清楚。

## 4 根肿病的防治

### 4.1 抗病品种的选育

根肿病是十字花科作物的重要病害之一,大多数作物品种对根肿病都是高感的。因此,大多数育种学家期望通过鉴定抗根肿病的 *R* 基因达到培育抗病品种的目的。研究表明 *R* 基因是一个多基因家族,这些家族蛋白能够识别效应因子并激发植物的防卫反应,产生过敏反应。最近研究发现芸薹属作物 *B. rapa* 含多个抗根肿病 *CR* 基因和 1~2 个数量性状位点(QTL)<sup>[35]</sup>。Voorrips 报道一些抗根肿菌的甘蓝(*B. oleracea*),随后又从 *B. oleracea* 上发现了 2 个抗根肿病的数量性状位点 pb-3 和 pb-4<sup>[43]</sup>。另外,Manzaneres-Dauleux 从甘蓝型油菜上分离到 1 个抗性基因 *Pb-BnI*<sup>[44]</sup>。目前,虽然已有一些商品化的抗性品种,但是单基因抗性强,对病菌的选择压力大,根肿菌易出现遗传和致病力的变化,促进新小种的出现,导致有些抗性品种容易失去抗性,因此不断筛选和培育具有多个抗性的新品种是今后防治根肿病的目标。

### 4.2 农业措施

目前,防治根肿病的农业措施包括 3 个方面。一是土壤处理,通过改良土壤,改变土壤酸碱度,以降低根肿病发病率<sup>[45]</sup>。钙盐处理既可以调节土壤的 pH 值,又可以增加土壤中可交换  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度从而减轻病菌的危害<sup>[46]</sup>。在整地施肥时,结合增施熟石灰、草木灰或蛋壳粉等碱性物质,改变土壤酸性状况<sup>[47]</sup>。另外,研究表明硼处理能够减少根肿病的发生概率<sup>[48]</sup>。二是加强田间管理,农用机械和设备使用要及时清理、消毒,园区彻底清除病残体并烧毁。三是轮作,与非十字花科作物轮作 3 年以上,能有效减轻根肿病的发生<sup>[49]</sup>。

### 4.3 化学防治

据报道,五氯硝基苯、氟啶胺、甲基二硫代氨基甲酸钠、氰

霜唑、百菌清等化学药剂对根肿病均有一定的防效<sup>[50-51]</sup>。播种前用化学药剂对种子、苗床、土壤进行消毒处理,对根肿病有一定的防治效果。大田试验表明 50% 氟啶胺和 10% 氰霜唑对白菜根肿病具有较好的防治效果<sup>[52]</sup>。孙道旺等发现用 75% 百菌清于苗期灌根 2 次能有效地防治白菜根肿病,且无农药残留<sup>[53]</sup>。李妍等比较灌根法和拌药法对白菜根肿病的防效,发现 50% 氟啶胺悬浮剂拌药处理的防效更好<sup>[54]</sup>。

### 4.4 生物防治

除了选育抗病品种、化学防治、农业措施等手段防治根肿病外,生物防治成为目前防治的一个重要手段。多年来,人们对生防菌的生防应用、生物药剂的开发及生防机制做了大量尝试和深入的研究。有研究表明,土壤中的生物拮抗菌对根肿菌的防治效果明显。其中生防真菌主要有茎点霉属真菌 *Phoma glomerata*<sup>[55]</sup>、木霉菌 *Trichoderma* (TC32、TC45、TC63)<sup>[56]</sup>、枝顶孢属真菌 *Acremonium alternatum*<sup>[57]</sup>、粘帚菌 *Gliocladium catenulatum*<sup>[58]</sup> 以及大白菜根部的一种内生真菌 *Heteroconium chaetospora*<sup>[59]</sup>。已有研究表明,利用生防细菌和放线菌对防治根肿病也有一定效果。如细菌类枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* QST713)<sup>[60]</sup>、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis* XF-1)<sup>[61]</sup> 以及放线菌 *Streptomyces* isolate S99<sup>[56]</sup>、*Microbispora rosea* subsp. *rosea* (A004、A011)<sup>[62]</sup>、*Streptomyces olivochromogenes* (A018)<sup>[62]</sup>、*Streptomyces griseorube* (A316、A10)<sup>[63]</sup> 和 YN-6<sup>[64]</sup> 都可以有效地控制根肿病。目前,一些生防菌已被开发和商品化生产,为根肿病的防治提供了新的方向。

## 5 问题与展望

### 5.1 从分子水平上检测根肿病菌

由于根肿菌具有不同于其他物种的特性,利用分子生物学方法鉴定病原菌将是未来发展的趋势,有利于及时控制病原菌的传播及制定有效的防治策略。近年来,分子检测技术从最初的普通 PCR 发展到荧光定量 PCR<sup>[65]</sup>,然而,分子检测技术特别是荧光定量 PCR 技术对引物灵敏度和精确度的要求比常规 PCR 更高。目前,基于新靶标序列建立的检测体系为病原菌的检测应用提供了理论依据和方向。例如,用来检测大豆枯萎病的甾醇 14 $\alpha$ -去甲基化酶基因(*Sterol 14 $\alpha$ -de-methylase, CYP51C*)的特异序列,相比 rDNA-ITS、 $\beta$ -tubulin 序列,更加快速、高灵敏度、稳定<sup>[66]</sup>。因此,利用高度保守的基因序列作为分子检测的新靶标建立根肿菌的快速检测体系,可以为持续高效控制根肿病提供可靠且准确的鉴定方法。

### 5.2 加深对根肿菌分子致病机理的研究

由于根肿菌全基因组信息不足,遗传转化困难,因此分子致病机理研究进展十分缓慢。近年来,国外对根肿菌致病机理的研究取得了很大的进展。根肿菌遗传转化体系的建立,进一步加深了对根肿菌致病分子机制的理解,极大地促进了根肿病致病系统中多领域的研究。目前运用分子生物学手段鉴定致病相关基因已经越来越方便,例如 SSH 技术、Dot-blot 技术、DNA 芯片技术、双向电泳技术等。Feng 等研究表明根肿病菌存在初级侵染和次级侵染 2 种不同的侵染机制<sup>[41]</sup>。因此,研究侵染过程各阶段重要基因的功能,可为药剂研发提供潜在的分子靶标,为筛选新的抗源和制定新的控

制策略提供重要的指导意义。

### 5.3 生物防治是未来防治的一大趋势

根肿病的防治一直是国内外研究的重点和热点。目前,防治根肿病的措施很多,其中化学防治和种植抗病品种是防治根肿病的重要手段。但是,由于该病原菌生理小种的多样性和易变性,导致抗病品种推广数年后易失去抗性,而目前化学药剂防效不佳,同时长期大量使用化学农药增加了十字花科作物体内有毒物质的积累和残留,给人类健康带来危害。利用生物防治不仅避免了这一系列问题,而且安全、有效,在植物病害防治中已经成为一种十分重要且有效的措施。然而,生物防治也有一定的局限性,如容易受到环境因素的影响,作用效果不如化学防治明显。因此,应不断加深生防菌生防机制的研究,提高生防菌的生防效果和稳定性,为生物防治带来新的契机和应用前景。

### 参考文献:

- [1] Dixon G R. *Plasmodiophora brassicae* (Clubroot): A plant pathogen that alters host growth and productivity[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2009, 28(3): 193.
- [2] 王 靖, 黄 云, 李小兰, 等. 十字花科根肿病研究进展[J]. 植物保护, 2012, 37(6): 153–158.
- [3] 李金萍, 柴阿丽, 孙日飞, 等. 十字花科蔬菜根肿病研究新进展[J]. 中国蔬菜, 2012(8): 1–4.
- [4] Woronin M. *Plasmodiophora brassicae*, Urheber der Kohlpflanzen Hernie[M]. Jahrb Wiss Bot, 1878.
- [5] Hawksworth D L, Kirk P M, Sutton B C, et al. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the fungi[M]. Kew: Common Wealth Mycological Institute, 1995.
- [6] Alexopoulos C J, Mims C W. Introductory Mycology[M]. Toronto: John Wiley & Sons, 1979, 3nd.
- [7] Neuhauser S, Kirchmair M, Gleason F H. The ecological potentials of Phytomyxa (“plasmodiophorids”) in aquatic food webs[J]. Hydrobiologia, 2011, 659(1): 23–35.
- [8] 黄 云, 马淑青, 李晓琴, 等. 油菜根肿病菌的形态和休眠孢子的生物学特性[J]. 中国农业科学, 2007, 40(7): 1388–1394.
- [9] 肖崇刚, 郭向华. 甘蓝根肿病菌的生物学特性研究[J]. 菌物学报, 2002, 21(4): 597–603.
- [10] 杨文强. 小白菜根肿病发生规律、发病条件及病菌生物学特性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.
- [11] Ayers G W. Studies on the life history of the club root organism, *Plasmodiophora brassicae*[J]. Canadian Journal of Research, 1944, 22(4): 143–149.
- [12] Kageyama K, Asano T. Life cycle of *Plasmodiophora brassicae*[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2009, 28(3): 203–211.
- [13] 吕理桢. 十字花科蔬菜根肿病[J]. 云南农业大学学报, 2002, 17(2): 134–136.
- [14] Wellman F L. Clubroot of crucifers[M]. Washington: U S Dept of Agriculture, 1930.
- [15] McDonald M R, Westerveld S M. Temperature prior to harvest influences the incidence and severity of clubroot on two Asian Brassica vegetables[J]. HortScience, 2008, 43(5): 1509–1513.
- [16] Buczacki S T, Ockendon J G, Freeman G H. An analysis of some effects of light and soil temperature on clubroot disease[J]. Annals of Applied Biology, 1978, 88(2): 229–238.
- [17] Sharma K, Gossen B D, McDonald M R. Effect of temperature on primary infection by *Plasmodiophora brassicae* and initiation of clubroot symptoms[J]. Plant Pathology, 2011, 60(5): 830–838.
- [18] Sharma K, Gossen B D, McDonald M R. Effect of temperature on cortical infection by *Plasmodiophora brassicae* and clubroot severity[J]. Phytopathology, 2011, 101(12): 1424–1432.
- [19] 刘 勇, 罗一帆, 黄小琴, 等. 芸薹根肿菌生理小种鉴别方法研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(4): 420–426.
- [20] Williams P H. A system for the determination of races of *Plasmodiophora brassicae* that infect cabbage and rutabaga[J]. Phytopathology, 1966, 56(6): 624–626.
- [21] Buczacki S T, Toxopeus H, Mattusch P, et al. Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: Proposals for attempted rationalization through an international approach[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1975, 65(2): 295–303.
- [22] Somé A, Manzanares M J, Laurens F, et al. Variation for virulence on *Brassica napus* L. amongst *Plasmodiophora brassicae* collections from France and derived single – spore isolates[J]. Plant Pathology, 1996, 45(3): 432–439.
- [23] Kuginuki Y, Yoshikawa H, Hirai M. Variation in virulence of *Plasmodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot – resistant cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. European Journal of Plant Pathology, 1999, 105(4): 327–332.
- [24] 苗则彦, 白元俊, 李 颖, 等. 十字花科根肿病菌(*Plasmodiophora brassicae*)致病力分化研究方法[J]. 东北农业大学学报, 2013, 44(1): 143–148.
- [25] Ito S, Maehara T, Maruno E, et al. Development of a PCR – based assay for the detection of *Plasmodiophora brassicae* in soil[J]. Journal of phytopathology, 1999, 147(2): 83–88.
- [26] Manzanares – Dauleux M, Divaret I, Baron F, et al. Assessment of biological and molecular variability between and within field isolates of *Plasmodiophora brassicae*[J]. Plant Pathology, 2001, 50(2): 165–173.
- [27] Cao T, Tewari J, Strelkov S E. Molecular detection of *Plasmodiophora brassicae*, causal agent of clubroot of crucifers, in plant and soil[J]. Plant Disease, 2007, 91(1): 80–87.
- [28] Wallenhammar A – C, Arwidsson O. Detection of *Plasmodiophora brassicae* by PCR in naturally infested soils[J]. European Journal of Plant Pathology, 2001, 107(3): 313–321.
- [29] Sundelin T, Christensen C B, Larsen J, et al. In planta quantification of *Plasmodiophora brassicae* using signature fatty acids and real – time PCR[J]. Plant Disease, 2010, 94(4): 432–438.
- [30] Wallenhammar A – C, Almquist C, Söderström M, et al. In – field distribution of *Plasmodiophora brassicae* measured using quantitative real – time PCR[J]. Plant Pathology, 2012, 61(1): 16–28.
- [31] 杨佩文, 李家瑞, 杨勤忠, 等. 根肿病菌核糖体基因 ITS 区段的克隆测序及其在检测中的应用[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(3): 228–233.
- [32] 尹 全, 宋 君, 刘 勇, 等. 土壤根肿病菌休眠孢子 PCR 快速检测方法的建立[J]. 西南农业学报, 2010, 23(2): 390–392.
- [33] Li J P, L Y, Shi Y X, Xie X W, et al. Development of a real – time PCR assay for *Plasmodiophora brassicae* and its detection in soil samples[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2013, 12(10): 1799–1806.
- [34] Bulman S, Ridgway H J, Eady C, et al. Intron – rich gene structure in the intracellular plant parasite *Plasmodiophora brassicae*[J]. Pro-

- tist, 2007, 158(4): 423–433.
- [35] Hwang S F, Strelkov S E, Feng J, et al. *Plasmodiophora brassicae*: a review of an emerging pathogen of the Canadian canola (*Brassica napus*) crop[J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(2): 105–113.
  - [36] Ito S, Ichinose H, Yanagi C, et al. Identification of an in planta – induced mRNA of *Plasmodiophora brassicae*[J]. Journal of Phytopathology, 1999, 147(2): 79–82.
  - [37] Brodmann D, Schuller A, Ludwig – Müller J, et al. Induction of trehalase in *Arabidopsis* plants infected with the trehalose – producing pathogen *Plasmodiophora brassicae*[J]. Molecular Plant – Microbe Interactions, 2002, 15(7): 693–700.
  - [38] Ando S, Yamada T, Asano T, et al. Molecular cloning of *PbSTKLI* gene from *Plasmodiophora brassicae* expressed during clubroot development[J]. Journal of Phytopathology, 2006, 154(3): 185–189.
  - [39] Siemens J, Graf H, Bulman S, et al. Monitoring expression of selected *Plasmodiophora brassicae* genes during clubroot development in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Pathology, 2009, 58(1): 130–136.
  - [40] Feng J, Hwang R, Hwang S F, et al. Molecular characterization of a serine protease Prol from *Plasmodiophora brassicae* that stimulates resting spore germination[J]. Molecular Plant Pathology, 2010, 11(4): 503–512.
  - [41] Feng J, Hwang S – F, Strelkov S E. Assessment of gene expression profiles in primary and secondary zoospores of *Plasmodiophora brassicae* by dot blot and real – time PCR [J]. Microbiological Research, 2013.
  - [42] Feng J, Hwang S F, Strelkov S E. Genetic transformation of the obligate parasite *Plasmodiophora brassicae* [J]. Phytopathology, 2013, 103(10): 1052–1057.
  - [43] Voorrips R E, Jongerius M C, Kanne H J. Mapping of two genes for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in a population of doubled haploid lines of Brassica oleracea by means of RFLP and AFLP markers [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1997, 94(1): 75–82.
  - [44] Manzanares – Dauleux M J, Delourme R, Baron F, et al. Mapping of one major gene and of QTLs involved in resistance to clubroot in *Brassica napus*[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 101: 885–891.
  - [45] Rashid A, Ahmed H U, Xiao Q, et al. Effects of root exudates and pH on *Plasmodiophora brassicae* resting spore germination and infection of canola (*Brassica napus* L.) root hairs[J]. Crop Protection, 2013, 48: 16–23.
  - [46] Niwa R, Kumei T, Nomura Y, et al. Increase in soil pH due to Ca – rich organic matter application causes suppression of the clubroot disease of crucifers [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(3): 778–785.
  - [47] Murakami H, Tushima S, Kuroyanagi Y, et al. Reduction of resting spore density of *Plasmodiophora brassicae* and clubroot disease severity by liming[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2002, 48(5): 685–691.
  - [48] Webster M A, Dixon G R. Boron, pH and inoculum concentration influencing colonization by *Plasmodiophora brassicae*[J]. Mycological Research, 1991, 95(1): 74–79.
  - [49] Yamada M, Asandhi A A, Purwati E. Control of cabbage clubroot disease by employing one – year crop rotations with three vegetable combinations in the West Java highlands of Indonesia[J]. JIRCAS Working Report, 2004, 43: 15–184.
  - [50] Strelkov S E, Hwang S, Howard R J, et al. Progress towards the sustainable management of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) of canola on the Canadian prairies [J]. Prairie Soils and Crops, 2011, 4: 114–121.
  - [51] Kowata – Dresch L S, May – De Mio L L. Clubroot management of highly infested soils[J]. Crop Protection, 2012, 35: 47–52.
  - [52] 张日波. 成都市十字花科根肿病调查及药剂防治筛选[D]. 成都: 四川农业大学, 2010.
  - [53] 孙道旺, 杨家鸾, 杨明英, 等. 75% 达科宁防治白菜根肿病产量损失测定及残留分析[J]. 西南农业学报, 2004, 17(2): 189–191.
  - [54] 李 妍, 谢学文, 石延霞, 等. 防治白菜根肿病的药剂筛选[J]. 农药学报, 2010, 12(1): 93–96.
  - [55] Arie T, Kobayashi Y, Okada G, et al. Control of soilborne clubroot disease of cruciferous plants by epoxydon from *Phoma glomerata* [J]. Plant Pathology, 1998, 47: 743–748.
  - [56] Cheah L H, Veerakone S, Kent G. Biological control of clubroot on cauliflower with *Trichoderma* and *Streptomyces* spp. [J]. Organics and Biocontrol, 2000, 53: 18–21.
  - [57] Jäschke D, Dugassa – Gobena D, Karlovsky P, et al. Suppression of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) development in *Arabidopsis thaliana* by the endophytic fungus *Acremonium alternatum*[J]. Plant Pathology, 2010, 59(1): 100–111.
  - [58] Peng G, McGregor L, Lahlali R, et al. Potential biological control of clubroot on canola and crucifer vegetable crops[J]. Plant Pathology, 2011, 60(3): 566–574.
  - [59] Narisawa K, Tokumasu S, Hashiba T. Suppression of clubroot formation in Chinese cabbage by the root endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*[J]. Plant Pathology, 1998, 47(2): 206–210.
  - [60] Lahlali R, Peng G, McGregor L, et al. Mechanisms of the biofungicide Serenade (*Bacillus subtilis* QST713) in suppressing clubroot [J]. Biocontrol Science and Technology, 2011, 21(11): 1351–1362.
  - [61] 何月秋, 熊国如, 范成明. 防治十字花科根肿病的生物制剂及其应用: 中国, 200810058919.0[P]. 2008–09–12.
  - [62] Lee S O, Choi G J, Choi Y H, et al. Isolation and characterization of endophytic actinomycetes from Chinese cabbage roots as antagonists to *Plasmodiophora brassicae*[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 18(11): 1741–6.
  - [63] 王 靖, 黄 云, 张 艳, 等. 油菜根肿病菌拮抗微生物的筛选及其防治效果测定[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(2): 169–174.
  - [64] 孙良非, 任佐华, 彭沙莎, 等. 白菜根肿病菌拮抗微生物的筛选及防治效果评价[J]. 湖南农业科学, 2013(1): 84–87.
  - [65] Rennie D C, Manoli V P, Cao T, et al. Direct evidence of surface infestation of seeds and tubers by *Plasmodiophora brassicae* and quantification of spore loads[J]. Plant Pathology, 2011, 60(5): 811–819.
  - [66] 王健生, 王佳妹, 李 潇, 等. 尖镰孢菌 (*Fusarium oxysporum*) 的快速分子检测[J]. 植物病理学报, 2013, 43(3): 318–322.