

余方伟,张 伟,李建斌,等. 十字花科作物根肿病研究进展[J]. 江苏农业科学,2024,52(15):1-8.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.15.001

十字花科作物根肿病研究进展

余方伟,张 伟,李建斌,于 利,王神云

(江苏省农业科学院蔬菜研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室,江苏南京 210014)

摘要:根肿病是由芸薹根肿菌侵染引起的一种土传病害,是制约十字花科蔬菜、油料作物高产稳产的重要因素之一。根肿病具有发病面积广、传播途径多、防治难度大等特点,除了直接导致作物减产外,根肿病病原的休眠孢子能在土壤中长时间存活,造成田块长期带菌,从而影响后续十字花科作物种植。基于国内外研究人员在根肿病病原的生活史、致病机制和根肿病综合防治等方面取得的重要研究进展,本文综述了影响休眠孢子萌发的生物因素及芸薹根肿菌的初侵染与再侵染过程,芸薹根肿菌的基因组特征与效应蛋白功能,芸薹根肿菌的生理小种鉴定,基于监测预警、农业防治、生物防治、化学防治的根肿病综合防治技术研发现状,同时探讨了当前根肿病研究中存在的问题和未来的发展方向,以期对根肿病综合防治关键技术的研发与应用提供借鉴。

关键词:根肿病;芸薹根肿菌;休眠孢子;致病机制;综合防治

中图分类号:S436.3;S435.654 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)15-0001-07

十字花科作物既是日常蔬菜的重要组成部分,也是植物油脂的重要原料,在全国各地普遍栽培,并且在出口创汇中占有重要地位。蔬菜产业统计数据显示,2019 年我国种植面积和出口量排行前十的蔬菜之一来自于十字花科芸薹属^[1]。十字花科作物在生产过程中面临多种病害的侵袭,由芸薹根肿菌(*Plasmodiophora brassicae* Woronin)引起的根肿病是其重要病害之一,在全球多个国家均有不同程度发生,造成年平均 10%~15% 的产量损失^[2-3]。根肿病传播速度快,在我国多个省份均有分布,常年危害面积 320 万~400 万 hm²,占十字花科作物栽培面积的 1/3 以上^[4]。除了直接导致作物减产外,芸薹根肿菌的休眠孢子能在土壤中存活达 20 年之久^[5],因此在休眠孢子污染的田块上种植十字花科作物将有极大减产风险。本文综述了国内外研究人员在芸薹根肿菌的生活史、基因组、效应蛋白、生理小种鉴定和根肿病综合防治方面取得的重要研究进展,并就存在的问题和未来的发展方向进行探讨。

1 芸薹根肿菌的生活史

不同于其他植物病原,芸薹根肿菌是一种专性寄生于植物细胞内的原生生物,主要通过吞噬寄主植物的细胞器来获取养分^[6]。休眠孢子萌发是芸薹根肿菌侵染的起始阶段,以往研究发现,一些非寄主和寄主植物的根系分泌物能刺激休眠孢子萌发^[7]。值得一提的是,这些根系分泌物的作用效果并不是寄主特异的,与寄主植物欧洲油菜(*Brassica napus*)和白菜(*B. rapa* var. *glabra* Regel)的根系分泌物相比,非寄主植物黑麦草(*Lolium perenne*)的根系分泌物促进休眠孢子萌发的效果更明显^[7]。然而,近期研究结果表明,土壤细菌菌群而非植物根系分泌物才是刺激休眠孢子萌发的直接因素,其中寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)及无色杆菌属(*Achromobacter*)成员的富集与休眠孢子萌发率的提高呈正相关^[8]。

目前,芸薹根肿菌生活史的具体过程还存在争议^[9]。近年来,Liu 等借助扫描电子显微镜、荧光染料和共聚焦显微镜,研究并完善了根肿病病原的初侵染和再侵染过程(图 1)^[9]。在初侵染阶段,休眠孢子萌发释放一个椭圆形或梨形、双鞭毛的初级游动孢子。初级游动孢子吸附在寄主植物根毛或根表皮细胞上形成包裹,然后通过管腔(rohr)内形成的棘杆(stachel)穿透寄主植物细胞壁^[10]。在寄

收稿日期:2023-09-04

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(22)3159];江苏省重点研发计划(社会发展)项目(编号:BE2022788)。

作者简介:余方伟(1986—),男,浙江台州人,博士,副研究员,主要从事甘蓝抗病机制及遗传育种研究。E-mail:yfw@jaas.ac.cn。

通信作者:王神云,博士,研究员,主要从事甘蓝抗病、抗逆机制及遗传育种研究。E-mail:wangshenyun@jaas.ac.cn。

主细胞内,类似变形虫的病原经过核分裂形成多核的初级原质团,然后发育成可以形成游动孢子囊的多核原质团,再在发生胞质分裂后产生单核游动孢子囊。每个单核游动孢子囊在相继发生核分裂和胞质分裂后产生次级游动孢子。次级游动孢子之间发生接合,产生二倍体合子^[9]。在再侵染阶段,次级游动孢子在根皮层细胞内发育成单核次级原质团,经有丝分裂和营养生长发育成多核次级原质

团,最后经减数分裂形成单核休眠孢子^[9]。受害植物出现矮化、叶片萎蔫、根系肿大症状,病根含有大量的休眠孢子(图2)。根肿病病原在侵染寄主过程中同时存在不同的发育形态,因而呈现出发育不同步现象,随着时间的推移,休眠孢子占比增加^[9]。休眠孢子的细胞壁含有多糖、蛋白质和脂质等组分,但不含有壳聚糖和纤维素^[11]。此外,休眠孢子富含脂滴^[12],可能有助于其在土壤中长期存活。

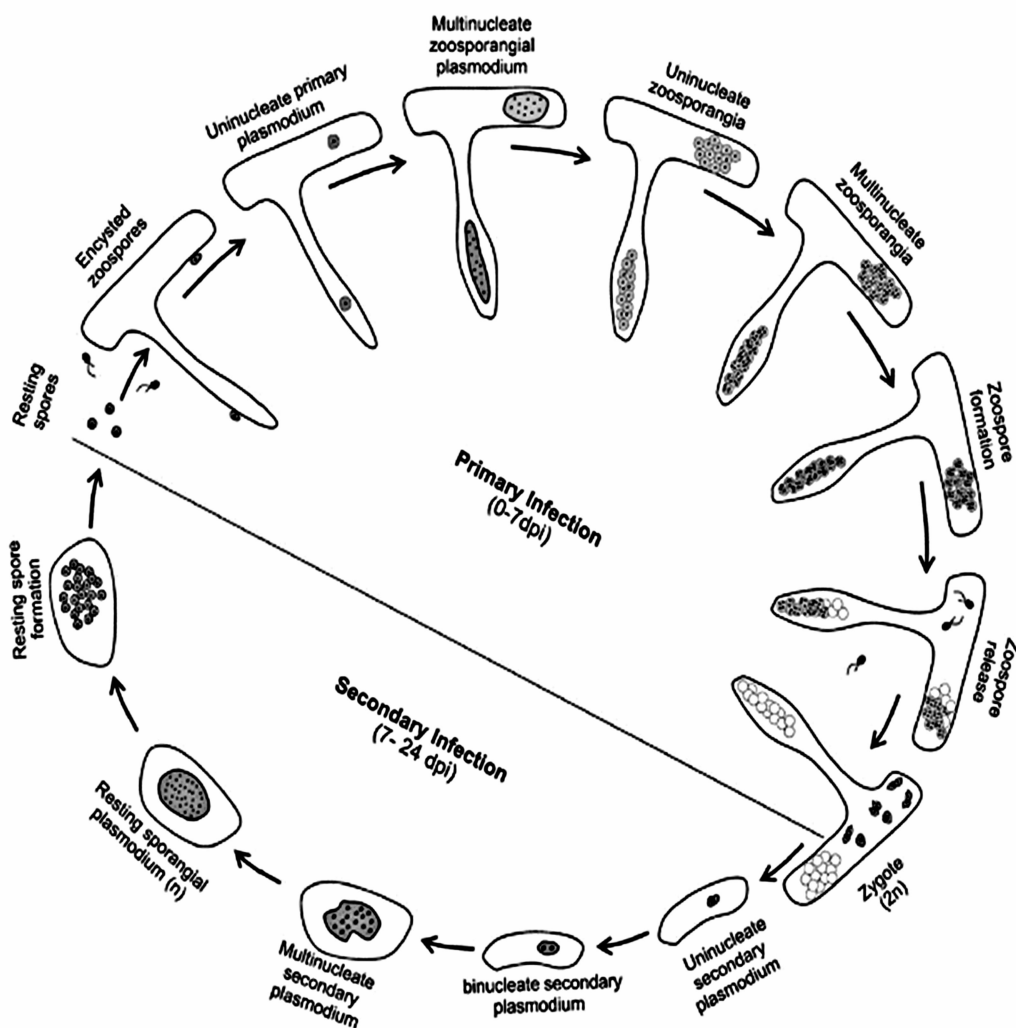


图1 芸薹根肿菌生活史^[9]

2 芸薹根肿菌的基因组与效应蛋白

基因组包含病原的重要遗传信息,对于致病机制的解析具有重要意义。然而,芸薹根肿菌必须依赖感病植物进行扩繁,这给其基因组 DNA 的提纯带来诸多困难,一定程度上推迟了该病原的基因组研究。Schwelm 等基于 454 DNA 测序和 Illumina 短读长测序技术,率先完成了单孢分离株 e3 的全基因组

测序,获得了芸薹根肿菌的基因组(24 Mb)^[13]。该基因组由 165 个重叠群(contig)组成,具有基因总数少(9 730 个预测的蛋白编码基因)、基因密度高、重复序列和转座子占比低(5.4%)等特点^[13]。进一步分析发现,芸薹根肿菌在多个代谢途径上呈现出活体营养型病原的特征:硫和氮吸收相关基因缺失;组氨酸、色氨酸、苏氨酸、精氨酸、赖氨酸及硫胺素生物合成基因缺失;脂肪酸合酶基因缺失,不能

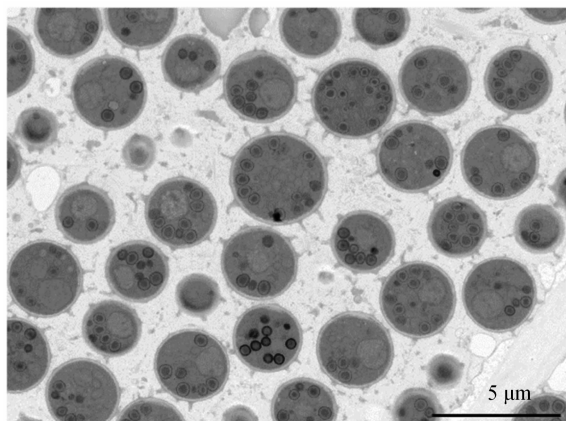


图2 芸薹根肿菌休眠孢子透射电镜观察

从头合成脂肪酸^[13]。芸薹根肿菌还具备干扰寄主激素稳态的潜在能力;*PbGH3* 的异源表达产物能在离体条件下结合生长素和茉莉酸;异戊烯基转移酶基因和细胞分裂素氧化酶基因的编码产物可能影响寄主的细胞分裂素稳态;*PbBSMT* 的编码产物具有甲基转移酶活性,可使水杨酸发生甲基化^[13-14]。就细胞壁降解酶而言,在芸薹根肿菌中,仅极少部分的预测蛋白质含有与植物细胞壁组分降解或修饰相关的结构域^[13]。此外,有 13 个预测的几丁质合酶基因存在于 e3 基因组上^[13]。Stjelja 等借助 PacBio 长读长测序数据,进一步提高了组装质量,最终获得了近乎完整的 e3 基因组 (25.1 Mb)^[15]。该基因组包含了由 19 个重叠群组成的核基因组和 114 663 bp 的线粒体基因组,核基因组编码了 9 231 个预测的蛋白质,而线粒体基因组则包含 32 个蛋白编码基因、28 个结构 RNA 编码基因和 19 个开放阅读框^[15]。随着高通量测序技术的不断普及,越来越多的芸薹根肿菌基因组被公布,目前 NCBI 共收录

了 50 个该病原的基因组组装数据 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/?taxon=37360>)。

基因功能研究是揭示病原致病机制的重要方式。2015 年之前,已有部分芸薹根肿菌基因被克隆^[16];自 2015 年以来,随着该病原基因组研究的兴起^[13],促分裂原活化蛋白激酶级联通路基因^[17]、免疫亲和蛋白基因^[18]、E3 泛素连接酶基因^[19]、蛋白磷酸酶基因^[20]和糖转运蛋白基因^[21]又得到系统鉴定。然而,受限根肿病原的独特生活方式,上述基因的功能验证难以在其本体上开展。

病原在与寄主互作过程中会分泌一些小 RNA、次生代谢物和效应蛋白来促进侵染。芸薹根肿菌 e3 的预测蛋白质组中存在 553 个分泌蛋白^[13],对这些潜在的效应蛋白进行研究可为其致病机制解析提供新视角。目前,关于芸薹根肿菌效应蛋白大规模筛选的研究已见诸多报道^[22-23],但仅有少数效应蛋白的功能被揭示(表 1)。Pro1 具有丝氨酸蛋白酶活性,能促进芸薹根肿菌休眠孢子萌发^[24]。*PbBSMT* 在受芸薹根肿菌侵染的寄主根系中大量表达,其编码产物具有甲基转移酶活性,可使水杨酸发生甲基化,形成水杨酸甲酯^[13-14]。与野生型相比,过表达 *PbBSMT* 的拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 株系具有较低的本底水杨酸积累,因此对根肿病的易感性增强^[25-26]。SSPbP53 是一个半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白,能与拟南芥半胱氨酸蛋白酶 AtXCPI 互作,从而促进根肿病发生,而 *AtXCPI* 基因突变降低了根肿病的发病程度^[27]。PBZF1 通过与拟南芥 SnRK1.1 激酶互作来促进芸薹根肿菌侵染^[28]。PbChiB2 和 PbChiB4 能够结合几丁质,抑制几丁质触发的植物免疫反应^[29]。

表 1 芸薹根肿菌效应蛋白

名称	GenBank 登录号	功能	参考文献
Pro1	GU082362	具有丝氨酸蛋白酶活性,促进孢子萌发	[24]
PbBSMT1	CE094659	具有甲基转移酶活性,可使水杨酸甲基化,促进根肿病的发生	[14,25-26]
SSPbP53	CEP00895	半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白,与拟南芥半胱氨酸蛋白酶 AtXCPI 互作,促进芸薹根肿菌侵染	[27]
PBZF1	CEP01381	与 SnRK1.1 激酶互作,促进芸薹根肿菌侵染	[28]
PbChiB2/PbChiB4	CEP01301/CEP03198	结合几丁质,抑制几丁质触发的植物免疫反应	[29]

3 芸薹根肿菌的生理小种鉴定

根据对不同寄主植物的致病性差异,芸薹根肿菌可分成多个生理小种 (pathotype)。多年以来,Williams clubroot differential (WCD)^[30]、European

clubroot differential (ECD)^[31]、Somé clubroot differential(SCD)^[32] 鉴别系统被广泛应用于芸薹根肿菌的生理小种鉴定。但在 21 世纪初,随着抗根肿病品种逐渐应用到生产中,原有的生理小种鉴别系统已经难以满足需求,随后又相继建立了 Canadian

clubroot differential (CCD)^[33] 和 Sinitic clubroot differential(SCD)^[34] 鉴别系统。由于上述鉴别系统都是建立在病情指数评价的基础上,实际操作时往往耗时费力。为了简化鉴定流程,国际上一些研究组尝试在分子水平上区分其生理小种,成功找到了 WCD 鉴别系统中 4 号^[35]、5 号^[36]、7 号^[37] 生理小种的特异序列。此外, Tso 等基于 RNase H2 - dependent PCR(rhPCR) 和 SNaPshot 技术对 CCD 鉴别系统中的 5X 和 3H 生理小种进行了分子鉴定^[38]。自然条件下,不同菌株存在混合生长现象^[39],因此建议先进行根肿病病原的单孢分离,以提高生理小种鉴定结果的准确性。

4 根肿病综合防治

4.1 菌源量监测与根肿病风险预警

菌源量是决定根肿病发生、危害程度的关键因素。当 1 g 土壤中的休眠孢子数量超过 1 000 个时,根肿病发生风险较大^[40]。Xing 等进一步将根肿病发生风险分为 3 个等级:低风险($< 1 \times 10^4$ 个休眠孢子/g 土)、中风险(1×10^4 个休眠孢子/g 土 $\sim 1 \times 10^6$ 个休眠孢子/g 土)和重风险($> 1 \times 10^6$ 个休眠孢子/g 土)^[41]。为有效遏制根肿病的发生蔓延,建立一套可行的快速检测技术和风险预警机制尤为重要。目前,芸薹根肿菌休眠孢子的检测多采用荧光定量 PCR。Wallenhammar 等基于 rDNA 序列建立了土壤中休眠孢子的检测体系,该体系的检测下限为 500 个休眠孢子/g 土^[42]。Chai 等基于 18S rDNA 序列建立了畜禽粪便中休眠孢子的检测体系^[43]。关格格等基于 ITS 序列建立了土壤和种子中休眠孢子的检测体系,其对土壤样品的检测下限为 1 000 个休眠孢子/g 土,对种子的检测下限为 1×10^5 个休眠孢子/g 种子^[44]。Xing 等基于 rDNA 序列建立的休眠孢子检测体系的灵敏度为 10 个休眠孢子/mL、100 个休眠孢子/g 土、1 000 个休眠孢子/g 根、1 000 个休眠孢子/g 种子^[41]。柴阿丽等基于 18S rDNA 序列建立了休眠孢子检测体系,其对土壤和基质的检测下限均为 10 个休眠孢子/g^[40]。虽然目前荧光定量 PCR 在芸薹根肿菌休眠孢子定量检测方面的应用较为普遍,但该方法对不同土壤样本的检测能力不同,也不能有效区分孢子的活力。相比之下,微滴数字 PCR(droplet digital PCR, ddPCR) 对不同土壤样本的测试结果更为稳定,但当土壤样本中的休眠孢子浓度过高($\geq 10^7$ 个休眠孢子/g

土)时,该方法的准确性降低^[45]。另外, Al - Daoud 等通过使用叠氮溴化丙锭预处理来抑制无活力孢子来源的基因组 DNA 的扩增,从而建立了有活力孢子的检测方法^[46]。

4.2 农业防治

目前,根肿病的农业防治包括以下方面。一是土壤调理。通过调节土壤酸碱度,创造不利于根肿病发病的土壤环境。二是遏制根肿病扩散,消灭菌源。加强田间管理,农用机械和设备使用后要及时清理、消毒。三是轮作。与其他非寄主作物进行 2 年以上的轮作可以降低土壤中芸薹根肿菌的菌源量,从而减轻根肿病的危害^[47]。四是适当调整播期。调整播期,尽可能避开芸薹根肿菌的最佳侵染时期,可以降低根肿病的危害程度。五是选育抗病品种。目前,已在油菜、白菜等作物中育成了一些抗根肿病品种,如华双 5R^[48]、华油杂 62R^[49] 和辽白 28^[50]。华双 5R 含有 PbBa8.1 位点^[48],华油杂 62R 含有 CRb 位点^[49],辽白 28 含有 Pba8.1、CRa、CRb 和 CRd 等 4 个位点^[50]。值得注意的是,由于自然条件下根肿病病原的生理小种组成复杂,同一品种或材料对根肿病的抗感性往往呈现出时空差异。黄小琴等发现,在供试的 80 个油菜品种中,有 25 个品种在四川省安县、大邑、广汉的根肿病抗性表现不一致;在四川安县连续种植 3 年的 22 个油菜品种中,丰油精和高油 48 表现出不稳定抗性,绵丰油 5 号和德名油 1 号呈现出抗性丧失趋势,矮架早则表现为明显抗性丧失^[51]。李倩等发现,含有 CRb 位点的甘蓝型油菜 Bing409R 对来自宜昌、枝江、德阳、彭州、广汉、成都和黄山等地的芸薹根肿菌具有良好的抗性,但对腾冲、保山、临沧、德宏和恩施等地的芸薹根肿菌表现出不同程度的易感性^[49]。上述研究表明,在引入抗根肿病品种时,应充分考虑其种植地域和抗性的稳定性,通过合理布局来延长抗病品种的使用寿命。

4.3 生物防治

生物防治作为一种环境友好型的手段,越来越受到研究者的青睐,也是未来根肿病防治的一个重要发展方向。目前,根肿病生防菌主要来源于木霉属(*Trichoderma*) 和芽孢杆菌属(*Bacillus*),通过不同的机制发挥作用。贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*) F85 和解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*) T113 的基因组上存在多个合成抗菌肽的基因簇^[52]。抗菌脂肽丰原素(fengycin)在枯草芽孢杆菌(*B.*

subtilis) XF-1 拮抗芸薹根肿菌过程中发挥主要作用^[53]。不同于芽孢杆菌属细菌,木霉属真菌则可能通过调节植物根际微生物群落和招募芽孢杆菌属细菌等具有生防作用的细菌起作用^[54]。植物内生菌也展现出对根肿病的生防潜力:互生枝顶孢(*Acremonium alternatum*)不仅能减轻植物根系的根肿病症状,还能促进植物地上部分健康生长^[55-56]; *Heteroconium chaetospora* 则可以通过上调油菜茉莉酸、乙烯、生长素生物合成相关基因的表达来提高油菜对根肿病的抗性^[57];从油菜根部分离出的内生细菌短小芽孢杆菌(*B. pumilus*, YN201305)和枯草芽孢杆菌 YN201310 对芸薹根肿菌也具有明显的裂解和抑制效果^[58]。近年来,研究人员还发现了一些有助于休眠孢子消减技术研发的现象:*Cryptodiffugia operculata*、卡氏棘阿米巴(*Acanthamoeba castellanii*)等土壤生物可以捕食芸薹根肿菌休眠孢子^[59];疣果芥(*Bunias orientalis*)、大穗看麦娘(*Alopecurus myosuroides*)、虞美人(*Papaver rhoeas*)等植物被芸薹根肿菌感染后不出现根肿病症状^[60]。

4.4 化学防治

氟啶胺、氟霜唑、多菌灵、五氯硝基苯、氟磺胺等化学药剂对根肿病具有不同程度的防效^[61]。芸薹根肿菌或以不活跃的休眠孢子形式存在,或活跃于寄主细胞内,其独特的生活方式在一定程度上减弱了化学药剂的作用效果。此外,过高的菌源量影响化学药剂的防效^[62],而过量使用化学药剂(如氟啶胺)又容易造成药害^[63]。以上因素可能综合导致目前化学药剂的防效不甚理想,因此如何研发根肿病特效药剂及精准施药是根肿病化学防治需要解决的难题。

5 问题与展望

近年来,在气候条件变化、种植模式变革、品种更新与布局等多重因素的影响下,根肿病在十字花科作物主产区时有发生,因此生产中迫切需要多样化的防控技术来应对根肿病。然而,与叶部病害研究相比,根肿病的研究总体上较为薄弱,难以有效支撑防控技术的研发。品种的抗性水平是决定根肿病发生程度的主要因素,而抗病品种的选育依赖于抗性资源的筛选与利用,白菜(AA 基因组)、油菜(AACC 基因组)等作物中常用的抗根肿病基因主要源自芜菁(*Brassica rapa*, AA 基因组),而甘蓝类蔬菜(CC 基因组)总体上缺乏根肿病抗性资源。自然

条件下,芸薹根肿菌变异和传播速度快,生理小种组成复杂,而现有的抗根肿病品种往往只对 1 个或几个生理小种具有抗性,存在较大的抗性失效风险。

为实现根肿病的长效防控,建议进一步加强以下方面的研究。(1)深化芸薹根肿菌致病机制研究,揭示效应蛋白在芸薹根肿菌与十字花科植物互动中的功能,发掘根肿病防控的新靶标。(2)加强十字花科植物种质资源筛选和利用,借助高通量测序技术,充分发掘根肿病抗性基因。Wang 等从拟南芥 Est-1 生态型中鉴定到一个抗病基因 *WeiTsing*,导入该基因可赋予拟南芥 Col-0 生态型和油菜(ZS11)良好的根肿病抗性^[64]。进一步研究发现,芸薹根肿菌侵染诱导 *WeiTsing* 在抗根肿病拟南芥的中柱鞘中特异表达,*WeiTsing* 蛋白定位于内质网,通过形成五聚体介导钙离子流动,从而激活植物免疫信号通路^[64]。这项研究不仅揭示了以拟南芥为代表的十字花科植物抵御芸薹根肿菌侵染的新机制,也为该基因的应用奠定了理论基础。Yang 等采用 PacBio 长读长测序技术和高通量染色体构象捕获技术,成功组装了抗根肿病欧洲芜菁 ECD04 的基因组^[65]。该研究不仅揭示了芸薹属植物根肿病抗性基因的演化历程,也为十字花科作物抗根肿病基因的克隆、相关标记开发以及抗性育种提供了良好基础。(3)鉴定感病基因,通过基因编辑等技术创制抗病新材料。病原常利用植物感病基因来促进侵染,而感病基因的敲除可以赋予植物广谱、持久的抗病性。芸薹根肿菌侵染引起寄主糖转运蛋白基因 *SWEET11* 和 *SWEET12* 的表达量上调^[66-67]。在拟南芥中,*AtSWEET11* 和 *AtSWEET12* 双突变可以减缓根肿病的发生^[67]。甘蓝类蔬菜缺乏抗根肿病资源,因此感病基因的发掘和利用对于其根肿病抗性的改良具有重要价值。(4)进一步完善根肿病的监测预警技术,合理布局和科学利用抗病品种,延长抗病品种的使用寿命。(5)系统研究抗/感根肿病植物的土壤微生物群落结构特征,解析其与根肿病发生的关系。植物的根际和叶际栖息着大量微生物,微生物之间彼此发生相互作用,微生物菌群的稳态利于植物维持健康状态。健康植株和发生根肿病植株的土壤微生物群落存在明显差异^[68],因此,深入研究土壤微生物群落与芸薹根肿菌的互作,对于基于根际微生态调节的根肿病防治技术研发具有重要意义。

参考文献:

- [1] 辛竹琳, 崔彦娟, 杨小微, 等. 全球蔬菜产业现状及中国蔬菜育种发展路径研究进展[J]. 分子植物育种, 2022, 20(9): 3122 – 3132.
- [2] Lv H H, Fang Z Y, Yang L M, et al. An update on the arsenal: mining resistance genes for disease management of *Brassica* crops in the genomic era[J]. Horticulture Research, 2020, 7: 34.
- [3] Dixon G R. The occurrence and economic impact of *Plasmodiophora brassicae* and clubroot disease [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2009, 28(3): 194 – 202.
- [4] 王 靖, 黄 云, 李小兰, 等. 十字花科根肿病研究进展[J]. 植物保护, 2011, 37(6): 153 – 158.
- [5] Wallenhammar A C. Prevalence of *Plasmodiophora brassicae* in a spring oilseed rape growing area in central Sweden and factors influencing soil infestation levels[J]. Plant Pathology, 1996, 45(4): 710 – 719.
- [6] Garvetto A, Murúa P, Kirchmair M, et al. Phagocytosis underpins the biotrophic lifestyle of intracellular parasites in the class Phytomyxea (Rhizaria)[J]. The New Phytologist, 2023, 238(5): 2130 – 2143.
- [7] 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.
- [8] Wang Y, Zheng X R, Sarenqimuge S, et al. The soil bacterial community regulates germination of *Plasmodiophora brassicae* resting spores rather than root exudates [J]. PLoS Pathogens, 2023, 19(3): e1011175.
- [9] Liu L J, Qin L, Zhou Z Q, et al. Refining the life cycle of *Plasmodiophora brassicae* [J]. Phytopathology, 2020, 110(10): 1704 – 1712.
- [10] Aist J R, Williams P H. The cytology and kinetics of cabbage root hair penetration by *Plasmodiophora brassicae*[J]. Canadian Journal of Botany, 1971, 49(11): 2023 – 2034.
- [11] Moxham S E, Buczacki S T. Chemical composition of the resting spore wall of *Plasmodiophora brassicae* [J]. Transactions of the British Mycological Society, 1983, 80(2): 297 – 304.
- [12] Bi K, He Z C, Gao Z X, et al. Integrated omics study of lipid droplets from *Plasmodiophora brassicae* [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 36965.
- [13] Schwelm A, Fogelqvist J, Knaust A, et al. The *Plasmodiophora brassicae* genome reveals insights in its life cycle and ancestry of chitin synthases[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 11153.
- [14] Ludwig – Müller J, Jülke S, Geiü K, et al. A novel methyltransferase from the intracellular pathogen *Plasmodiophora brassicae* methylates salicylic acid[J]. Molecular Plant Pathology, 2015, 16(4): 349 – 364.
- [15] Stjelja S, Fogelqvist J, Tellgren – Roth C, et al. The architecture of the *Plasmodiophora brassicae* nuclear and mitochondrial genomes [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 15753.
- [16] 杜 艳, 刘卮洲, 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.
- [17] Chen T, Bi K, Zhao Y L, et al. MAPKK inhibitor U0126 inhibits *Plasmodiophora brassicae* development [J]. Phytopathology, 2018, 108(6): 711 – 720.
- [18] Singh K, Tzelepis G, Zouhar M, et al. The immunophilin repertoire of *Plasmodiophora brassicae* and functional analysis of PbCYP3 cyclophilin[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2018, 293(2): 381 – 390.
- [19] Yu F W, Wang S Y, Zhang W, et al. Genome – wide identification of genes encoding putative secreted E3 ubiquitin ligases and functional characterization of PbRING1 in the biotrophic protist *Plasmodiophora brassicae* [J]. Current Genetics, 2019, 65(6): 1355 – 1365.
- [20] 余方伟, 王神云, 张 伟, 等. 芸薹根肿菌蛋白磷酸酶组的鉴定及生物信息学分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(2): 318 – 324.
- [21] Kong L Y, Li X N, Zhan Z X, et al. Sugar transporters in *Plasmodiophora brassicae*: genome – wide identification and functional verification [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(9): 5264.
- [22] Chen W, Li Y, Yan R B, et al. Identification and characterization of *Plasmodiophora brassicae* primary infection effector candidates that suppress or induce cell death in host and nonhost plants [J]. Phytopathology, 2019, 109(10): 1689 – 1697.
- [23] Pérez – López E, Hossain M M, Tu J Y, et al. Transcriptome analysis identifies *Plasmodiophora brassicae* secondary infection effector candidates[J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 2020, 67(3): 337 – 351.
- [24] 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.
- [25] Djavaheri M, Ma L S, Klessig D F, et al. Mimicking the host regulation of salicylic acid: a virulence strategy by the clubroot pathogen *Plasmodiophora brassicae*[J]. Molecular Plant – Microbe Interactions, 2019, 32(3): 296 – 305.
- [26] Bulman S, Richter F, Marschollek S, et al. *Arabidopsis thaliana* expressing *PbBSMT*, a gene encoding a SABATH – type methyltransferase from the plant pathogenic protist *Plasmodiophora brassicae*, show leaf chlorosis and altered host susceptibility [J]. Plant Biology, 2018, 21(S1): 120 – 130.
- [27] Pérez – López E, Hossain M M, Wei Y D, et al. A clubroot pathogen effector targets cruciferous cysteine proteases to suppress plant immunity[J]. Virulence, 2021, 12(1): 2327 – 2340.
- [28] Chen W, Li Y, Yan R B, et al. SnRK1.1 – mediated resistance of *Arabidopsis thaliana* to clubroot disease is inhibited by the novel *Plasmodiophora brassicae* effector PBZF1 [J]. Molecular Plant Pathology, 2021, 22(9): 1057 – 1069.
- [29] Muirhead K, Pérez – López E. *Plasmodiophora brassicae* CBM18 proteins bind chitin and suppress chitin – triggered immunity[J]. PhytoFrontiers, 2022, 2(1): 21 – 29.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] Some 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.
- [33] Strelkov S E, Hwang S F, Manolii V P, et al. Virulence and pathotype classification of *Plasmodiophora brassicae* populations collected from clubroot resistant canola (*Brassica napus*) in Canada [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2018, 40(2): 284–298.
- [34] Pang W X, Liang Y, Zhan Z X, et al. Development of a Sinitic clubroot differential set for the pathotype classification of *Plasmodiophora brassicae* [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 568771.
- [35] Zheng J, Wang X L, Xiao Y, et al. Specific genes identified in pathotype 4 of the clubroot pathogen *Plasmodiophora brassicae* [J]. Plant Disease, 2019, 103(3): 495–503.
- [36] Zhang H, Feng J, Manolii V P, et al. Characterization of a gene identified in pathotype 5 of the clubroot pathogen *Plasmodiophora brassicae* [J]. Phytopathology, 2015, 105(6): 764–770.
- [37] Yang H, Zheng J, Fu Y D, et al. Specific genes and sequence variation in pathotype 7 of the clubroot pathogen *Plasmodiophora brassicae* [J]. European Journal of Plant Pathology, 2020, 157(1): 17–28.
- [38] Tso H H, Galindo – González L, Locke T, et al. Protocol: rhPCR and SNaPshot assays to distinguish *Plasmodiophora brassicae* pathotype clusters [J]. Plant Methods, 2022, 18(1): 91.
- [39] Fu H T, Yang Y L, Mishra V, et al. Most *Plasmodiophora brassicae* populations in single canola root galls from Alberta fields are mixtures of multiple strains [J]. Plant Disease, 2020, 104(1): 116–120.
- [40] 柴阿丽, 李晓菁, 张思雨, 等. 土壤中芸薹根肿菌 qPCR 检测与风险预警体系的建立与应用 [J]. 植物病理学报, 2022, 52(6): 967–975.
- [41] Xing M Z, Guan G G, Zhang X Y, et al. Spatiotemporal quantification of *Plasmodiophora brassicae* inoculum in relation to clubroot development under inoculated and naturally infested field conditions [J]. Plant Disease, 2021, 105(11): 3636–3642.
- [42] 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.
- [43] Chai A L, Li J P, Xie X W, et al. Dissemination of *Plasmodiophora brassicae* in livestock manure detected by qPCR [J]. Plant Pathology, 2016, 65(1): 137–144.
- [44] 关格格, 邢曼竹, 庞文星, 等. 芸薹根肿菌及油菜根肿病分子检测与早期诊断 [J]. 中国油料作物学报, 2019, 41(3): 409–414.
- [45] Wen R, Lee J, Chu M G, et al. Quantification of *Plasmodiophora brassicae* resting spores in soils using droplet digital PCR (ddPCR) [J]. Plant Disease, 2020, 104(4): 1188–1194.
- [46] Al – Daoud F, Gossen B D, Robson J, et al. Propidium monoazide improves quantification of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* with qPCR [J]. Plant Disease, 2017, 101(3): 442–447.
- [47] Peng G, Pageau D, Strelkov S E, et al. A > 2 – year crop rotation reduces resting spores of *Plasmodiophora brassicae* in soil and the impact of clubroot on canola [J]. European Journal of Agronomy, 2015, 70: 78–84.
- [48] 战宗祥, 江莹芬, 朱紫媛, 等. 与位点 PbBa8.1 紧密连锁分子标记的开发及甘蓝型油菜根肿病抗性育种 [J]. 中国油料作物学报, 2015, 37(6): 766–771.
- [49] 李 倩, Nadil S, 周元委, 等. 抗根肿病甘蓝型油菜新品种华油杂 62R 的选育 [J]. 作物学报, 2021, 47(2): 210–223.
- [50] 王丽丽, 王 鑫, 吴海东, 等. 抗根肿病大白菜新品种辽白 28 [J]. 园艺学报, 2022, 49(增刊 2): 89–90.
- [51] 黄小琴, 张 蕾, 杨潇湘, 等. 西南地区油菜品种根肿病抗性 & 布局分析 [J]. 中国农学通报, 2020, 36(1): 122–130.
- [52] Zhu M L, He Y W, Li Y, et al. Two new biocontrol agents against clubroot caused by *Plasmodiophora brassicae* [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 10: 3099.
- [53] He P J, Cui W Y, Munir S, et al. Fengycin produced by *Bacillus subtilis* XF – 1 plays a major role in the biocontrol of Chinese cabbage clubroot via direct effect and defense stimulation [J]. Journal of Cellular Physiology, 2023: 1–12.
- [54] Li J H, Philp J, Li J S, et al. *Trichoderma harzianum* inoculation reduces the incidence of clubroot disease in Chinese cabbage by regulating the rhizosphere microbial community [J]. Microorganisms, 2020, 8(9): 1325.
- [55] Doan T T, Jäschke D, Ludwig – Müller J. An endophytic fungus induces tolerance against the clubroot pathogen *Plasmodiophora brassicae* in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica rapa* roots [J]. Acta Horticulturae, 2010(867): 173–180.
- [56] 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.
- [57] Lahlali R, McGregor L, Song T, et al. *Heteroconium chaetospora* induces resistance to clubroot via upregulation of host genes involved in jasmonic acid, ethylene, and auxin biosynthesis [J]. PLoS One, 2014, 9(4): e94144.
- [58] 王会军, 陈卓君, 吴毅毅, 等. 防治十字花科作物根肿病的油菜内生细菌分离与鉴定 [J]. 中国油料作物学报, 2014, 36(1): 92–97.
- [59] Schwelm A, Brennan F, Geisen S. No rest for resting spores: can predators mitigate clubroot disease? [J]. Journal of Sustainable Agriculture and Environment, 2023, 2(2): 131–139.
- [60] Zamani – Noor N, Brand S, Söchting H P. Effect of pathogen virulence on pathogenicity, host range, and reproduction of *Plasmodiophora brassicae*, the causal agent of clubroot disease [J]. Plant Disease, 2022, 106(1): 57–64.

沙天珍,刘莹,海梅荣. 外源褪黑素对干旱胁迫下植物生理及根际土壤影响的研究进展[J]. 江苏农业科学,2024,52(15):8-15.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.15.002

外源褪黑素对干旱胁迫下植物生理及根际土壤影响的研究进展

沙天珍^{1,2}, 刘莹^{1,2}, 海梅荣^{1,2}

(1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南昆明 650201; 2. 西南中药材种质创新与利用国家地方联合工程研究中心, 云南昆明 650201)

摘要: 干旱胁迫作为当前对作物生产影响较大的非生物胁迫之一, 严重限制植物的生长、发育及产量。干旱胁迫不仅会影响植物光合作用, 降低植物抗性基础, 改变植物根系结构, 降低根系代谢能力, 而且会破坏植物根际土壤养分平衡, 降低土壤酶活性, 改变土壤微生物群落构成, 最终会影响植物生长发育, 降低作物产量及品质, 甚至会导致植物死亡。褪黑素是一种有效的自由基清除剂, 外源施加褪黑素能有效缓解干旱胁迫给植物带来的危害, 其主要作用途径是增强植物光合作用和抗性, 改善根系结构及代谢能力, 提高根际土壤质量。针对干旱胁迫下外源施加褪黑素对植物生理及根际土壤的作用, 对前人在褪黑素缓解植物干旱胁迫方面的研究进行归纳总结, 以期缓解植物干旱胁迫的相关研究提供一些参考。

关键词: 干旱胁迫; 外源褪黑素; 植物生理; 根际土壤; 研究进展

中图分类号: S154; S184 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2024)15-0008-08

气候变暖不断加剧, 导致全球各地区植物遭受的干旱胁迫不断加重。干旱胁迫是植物经常要面临的一种非生物胁迫, 因淡水供应不足而发生, 维持时间长、难以监测及反复出现, 而且不限特定时间和地区^[1]。大量研究发现, 干旱胁迫严重限制植

物的生长发育及产量^[2-4]。干旱胁迫会改变植物的生理平衡^[5-7]。土壤在植物生长发育中起着非常重要的作用, 为植物提供各种营养成分。根系是最初感受土壤环境变化的, 其生长发育受到干旱等各种环境胁迫的影响, 根际土壤是环绕在植物根系周围的土壤, 是植物与周围环境物质交换的重要区域, 其中充满了丰富的土壤有机质、土壤酶及土壤微生物群落^[8]。植物生长发育的调控及产量的提高基于植物-土壤-微生物及其环境条件的相互作用, 当土壤受到干旱胁迫时, 植物根系最先感受到干旱胁迫的信号, 从而引发一系列有关生理生化变化, 影响植物根际土壤环境, 最终影响植物的生长

收稿日期: 2023-09-16

基金项目: 科技发展基金(编号: KX900078000)。

作者简介: 沙天珍(1996—), 女, 云南丽江人, 硕士研究生, 主要从事作物生理生态与产量品质形成研究。E-mail: 2795994236@qq.com。

通信作者: 海梅荣, 博士, 教授, 主要从事作物生产生理学、药用植物生理生态学研究。E-mail: 2250029499@qq.com。

[61] 章艺, 马新焱, 余红瑞, 等. 十字花科作物根肿病综合防治研究进展[J]. 中国蔬菜, 2022(10): 27-37.

[62] Peng G, Lahlali R, Hwang S F, et al. Crop rotation, cultivar resistance, and fungicides/biofungicides for managing clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) on canola[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2014, 36(S1): 99-112.

[63] 周晓肖, 李伟龙, 蒋蕊, 等. 青花菜根肿病田间防治技术研究[J]. 植物保护, 2020, 46(6): 259-263, 278.

[64] Wang W, Qin L, Zhang W J, et al. WeiTsing, a pericycle-expressed ion channel, safeguards the stele to confer clubroot resistance[J]. Cell, 2023, 186(12): 2656-2671.

[65] Yang Z Q, Jiang Y F, Gong J F, et al. R gene triplication confers European fodder turnip with improved clubroot resistance[J]. Plant

Biotechnology Journal, 2022, 20(8): 1502-1517.

[66] Zhang W, Wang S Y, Yu F W, et al. Genome-wide characterization and expression profiling of *SWEET* genes in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) reveal their roles in chilling and clubroot disease responses[J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 93.

[67] Walerowski P, Gündel A, Yahaya N, et al. Clubroot disease stimulates early steps of phloem differentiation and recruits *SWEET* sucrose transporters within developing galls[J]. The Plant Cell, 2018, 30(12): 3058-3073.

[68] 张智浩, 邓毅书, 聂强, 等. 白菜健康株与根肿病患病株的土壤微生物群落和功能差异[J]. 中国生态农业学报, 2023, 31(4): 530-542.