

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2019.03.031

油菜不同根肿病抗性材料的室内鉴定 及相关生理分析

蒋学飞, 岳 出, 刘双双, 王茂林

(四川大学生命科学学院, 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610064)

摘 要: 结合田间种植的根肿病抗性表现, 以菌土法和在蘸根法对多个疑似具有抗性的材料进行室内鉴定, 初步筛选出两种对根肿菌 4 号生理小种具有抗性的油菜材料 Kc84-1 和 OG-13; 用病情统计的方法将 Kc84-1 与目前已推广种植的抗性材料华双 5R 和易感材料 R-197 进行对照验证, 并对三种材料进行抗性生理分析. 结果表明: Kc84-1 与华双 5R 具有相同水平的根肿病抗性; 不同材料的防御酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性以及抗病相关物质丙二醛(MDA)含量的表现各不相同, 两种抗性材料在较高感病等级下的防御酶 SOD、POD、PAL 活性显著高于感病材料, PPO 活性和 MDA 含量在抗性材料和易感材料之间没有显著差异. 通过水培法观测三种材料感病早期的根毛侵染水平, 结果表明, 易感材料 R-197 的根毛侵染率在侵染第 6 d 到第 14 d 显著高于抗性材料华双 5R 和 Kc84-1.

关键词: 油菜; 根肿病; 抗性鉴定; 抗性生理; 根毛侵染

中图分类号: Q75 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2019)03-0573-08

Laboratory identification of different resistant materials with clubroot and related physiological analysis in rapeseed

JIANG Xue-Fei, YUE Chu, LIU Shuang-Shuang, WANG Mao-Lin

(Key Laboratory of Bio-Resource and Eco-Environment of Ministry of Education,
College of life sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: According to the resistance performance of clubroot in the field, two kinds of rapeseed materials, Kc84-1 and OG-13, which were resistant to the No. 4 physiological race of *Plasmodiophora brassicae*, were preliminarily screened out by the bacterial soil method and the dipping root method among the several suspected disease resistant materials. The clubroot resistance of material Kc84-1 was identified by comparing with the resistant cultivar Huashuang 5R and the susceptible material R-197 by the disease investigation statistics, and the related resistance physiological analysis of three materials was carried out. The results showed that, there was the same level clubroot resistance of Kc84-1 and Huashuang 5R. The activity of defense enzymes Superoxide Dismutase (SOD), Peroxidase (POD), Polyphenol oxidase (PPO), Phenylalanine ammonialyase (PAL) and the Malondialdehyde (MDA) content of resistance related substances were different in distinct materials. The activities of the two kinds of resistant materi-

收稿日期: 2018-4-30

基金项目: “国家重点研发计划”项目子课题(2016YFD010020002); 四川省科技成果转化项目(16NZ0065); 四川省育种攻关(2016NYZ0031)

作者简介: 蒋学飞(1990-), 男, 硕士研究生, 主要从事植物遗传与分子生物学方向研究. E-mail: 1582793896@qq.com

通讯作者: 王茂林. E-mail: mlwang@scu.edu.cn

als, such as SOD, POD, and PAL, were significantly higher than that of the susceptible material. There was no significant difference in PPO activity and MDA content between resistant materials and susceptible materials. The observation on root hair infection of three materials at an early stage by hydroponics, the results showed that the root hairs infection rate of susceptible material R-197 was significantly higher than that of resistant varieties Huashuang 5R and material Kc84-1 in the sixth to fourteenth days of infection.

Keywords: Rapeseed; Clubroot; Resistance identification; Resistant physiology; Root hair infection

1 引言

芸薹属根肿菌(*Plasmodiophora brassicae*)是一种专性寄生菌,能够寄生于十字花科植物中,造成拟南芥、油菜等十字花科植物罹患根肿病^[1].根肿菌感染植株后,常常会造成寄主植物的根部系统发育异常,组织肥大,感病植株由于地下组织根肿的形成造成地上部分发育不良,导致植株矮小,发育迟缓,严重时造成植株早衰或死亡^[2].目前根肿菌的主要寄主植物为油菜,油菜患上根肿病后生长发育受阻,最后导致作物减产^[3].油菜作为油料作物在全世界范围内种植广泛,但目前对根肿病的研究和了解程度不足,因此根肿病仍然是油菜产业面临的巨大挑战^[4],另一方面,目前生产上能够采用的防治方法存在着各自的弊端:农业防治劳动强度大,周期长,易造成土壤板结;化学防治,易造成药剂残留^[5-7];生物防治也因受到认识局限效果不够理想,因而选育抗性品种仍然是防治根肿病最根本有效且最安全的解决办法^[8-10].

从目前对根肿菌的认知水平来看,根肿菌的生活史可分为三个差异明显的阶段:休眠孢子阶段、根毛侵染阶段和皮层侵染阶段^[11].根肿菌在休眠孢子期多为直径约 $3\mu\text{m}$ 的表面有突刺的球状孢子^[12].在达到合适的萌发条件后,即在寄主根系分泌物的刺激下诱导萌发,形成初级游动孢子.初级游动孢子具有长短不一的两根鞭毛,可是驱动游动孢子运动至寄主植物的根毛处;随后,游动孢子在鞭毛嵌入位点的对侧位点处与根毛细胞发生附着,此后进入根毛侵染阶段;在此阶段初期是孢囊形成时期,在该过程中,游动孢子的鞭毛退化降解,孢囊内产生空泡和朝根毛细胞侧一侧开口的管状通道,通道内能够形成棘刺状蛋白,能够用以刺破细胞壁,便于原生质体入侵根毛^[13].入侵根毛后的孢子囊形成多个次级游动孢子,次级游动孢子开始入侵皮层,皮层侵染阶段开始.次级游动孢子入侵皮层后,形成多核的孢子囊,在皮层中增殖分裂,产生大

量的休眠孢子^[14].在寄主根部死亡腐烂后,休眠孢子被释放到土壤中,等待进入下一个周期,依此不断循环往复.基于根肿菌早期侵染的抗性分析表明根内早期侵染是根肿菌致病的关键环节,根毛侵染率可以作为根肿病抗性评价的一种方法^[15, 16].

在根肿菌与十字花科寄主植物的互作中,芸薹根肿菌对寄主的主要破坏作用是寄生于根部并且诱导根部细胞无序分裂增生形成肿瘤进而影响寄主根的吸收作用.由此前人对生长素和细胞分裂素在根肿形成过程中的作用进行了深入研究, Jutta 等提出了激素和代谢平衡假说,即肿根的形成是细胞分裂素与生长素共同作用所致^[17].也有人对水杨酸、茉莉酸、转化酶^[18, 19]、芥子油苷和类黄酮等次级代谢物质进行了研究^[20, 21].对于寄主对根肿病的抗性机制方面的研究,植物的抗病机制是有一系列物质共同参与完成的,防御酶在这些物质代谢环节中起着关键作用,所以植物病害的发生与防御酶系变化存在密切关系,因此,寄主的抗性水平可以通过防御酶系的活性反映出来^[22].对不同抗性品种的生理生化指标进行研究分析,主要针对一些防御酶类的物质,如: SOD、POD、PPO、PAL 和非酶类的抗性相关物质 MDA,比较不同感病程度下抗病品种与感病品种以上物质变化是否有明显差异以及与寄主根肿病抗性强弱或抗病特性的关系,也为油菜的根肿病抗性品种筛选提供一定的理论依据.

2 材料与方法

2.1 材料

选取 10 种经由长期田间种植观察,根肿病发病率较低的油菜材料(油菜近缘属)进行抗性检测.其中白菜型 1 种,芥菜型 3 种,甘蓝型 5 种,和 1 种油菜近缘属材料诸葛菜.

华双 5R,华中农业大学张椿雨提供的根肿病抗性材料.根肿菌采自成都市新都区新繁镇,经鉴定为 4 号生理小种.

表1 供试材料
Tab.1 Test materials

| 编号 | 名称 | 类型 |
|----|----------|---------------------------------------|
| ① | 棱角6号 | 芥菜型油菜(<i>Brassica juncea</i> L.) |
| ② | 南充芥 | 芥菜型油菜(<i>Brassica juncea</i> L.) |
| ③ | 德阳芥 | 芥菜型油菜(<i>Brassica juncea</i> L.) |
| ④ | 中双119 | 甘蓝型油菜(<i>Brassica napus</i> L.) |
| ⑤ | Kc84-1 | 甘蓝型油菜(<i>Brassica napus</i> L.) |
| ⑥ | OG-13 | 甘蓝型油菜(<i>Brassica napus</i> L.) |
| ⑦ | 宜宾菜薹 | 白菜型油菜(<i>Brassica campestris</i> L.) |
| ⑧ | 84100-18 | 甘蓝型油菜(<i>Brassica napus</i> L.) |
| ⑨ | 诸葛菜 | 油菜近缘属 |
| ⑩ | R-197 | 甘蓝型油菜(<i>Brassica napus</i> L.) |

2.2 方法

2.2.1 根肿病抗性初筛 孢子悬液制备:取新鲜根肿组织搅碎,纱布过滤后离心,3 100 r/min离心15 min,弃上清液,沉淀用蒸馏水悬浮后再3 100 r/min离心15 min,3次重复.弃上清液,用50%蔗糖溶液悬浮沉淀物,3 100 r/min离心10 min,将上清转移至新的无菌离心管中,补无菌水至30 mL,离心,弃上清,洗涤2遍,加无菌水并将悬浮液的孢子浓度调至 1×10^8 个/mL,4℃保存备用.

菌土法:在营养钵中育苗,将营养土:蛭石按照体积比为3:1的比例混合作基质,把菌根磨碎和无菌土混合,使菌土中孢子含量约为 2×10^8 个/g,再在灭菌土中挖1小穴,并在穴中放入20~30 g菌土,然后把萌芽的种子播在菌土中.40 d后调查发病状况.

蘸根法:无病虫10 d苗龄的幼苗用自来水将根部冲洗干净,并轻轻吸干水,然后浸入孢子浓度约为 1×10^8 个/L,12 h后把幼苗移植到消毒营养土中.接种30 d后拔出植株,将根部洗净后记录发病状况.

2.2.2 病情分级调查 对初筛结果中无明显感病的材料Kc84-1,华中农业大学提供的抗性材料华双5R和易感材料R-197进行病情分级调查.

菌液接种:播种基质用消毒干净的营养土和蛭石以3:1的体积比混合,播种前1天浇透基质.播种后每穴注射1 mL 1×10^7 个/mL菌液接种^[23].为了保证种子萌发环境的孢子浓度,播种前每个播种孔放置5 g经灭菌干燥的蛭石,播种之后将孢子悬浮液摇匀注射在种子与包裹种子的蛭石上.

播种后苗床温度控制在25℃左右,土壤湿度保持在90%左右,每种材料接种30株.接种后40 d左右、对照正常发病后进行调查.

病情调查:病情分级标准参照农业部公益性行

业(农业)科研专项(201003029)制定的标准:0级,根部无肿瘤,根系发育正常;1级,侧根着生少许肿瘤或主根稍有膨粗,有小但肉眼清晰可见的结节状肿块;3级,主根着生肿瘤,有明显的较大结节状或球状肿块;5级,主根上出现大的肿瘤,膨大成纺锤形,大的根肿一直延伸到下胚轴,植株矮小,生长停止^[24].

发病率=发病株数×100/总观察株数;

病情指数= $\sum(\text{发病级代表值} \times \text{各级病株数}) \times 100 / (\text{调查总株数} \times \text{最高发病级代表值})$;

病情指数<10为抗病,病情指数 ≥ 10 为感病^[24].

2.2.3 防御酶活性及抗病相关物质MDA含量检测 防御酶的提取及活性测定:将用于病情统计的植株按照病情分级的状况进行分类:0级(未发病)、1级(根毛有少量根肿)、3级(主根有膨大)、5级(主根膨大如纺锤),每种材料在各感病等级取三个重复(每个重复中取三株同等级混样),用五叶一心期第四片真叶进行各生化指标的测定,D(0)表示感病等级为0,D(1)表示感病等级为1,D(3)表示感病等级为3,D(5)表示感病等级为5.

参考苏州科铭生物技术有限公司的超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒;过氧化物酶(POD)试剂盒;多酚氧化酶(PPO)试剂盒;苯丙氨酸解氨酶(PAL)试剂盒,用酶标仪对各防御酶活性进行测定.

酶活单位:

SOD:在黄嘌呤氧化酶藕联反应体系,抑制率为50%时,反应体系中的SOD酶活力定义为一个酶活单位(U/mL).

POD:每克组织在每毫升反应体系中每分钟 A_{470} 变化为0.005为一个酶活力单位.

PPO:每分钟每克组织在每毫升反应体系中使525nm处吸光值变化0.005为一个酶活性单位.

PAL:每克组织在每毫升反应体系中每分钟使290nm下吸光值变化为0.05为一个酶活性单位.

MDA含量测定:同样参考苏州科铭生物技术有限公司的MDA试剂盒进行测定.

2.2.4 根毛侵染观测 孢子悬浮液的表面消毒^[25]:将孢子悬浮液1700 g离心5 min,弃掉上清,加入适量2%新鲜的氯胺T室温处理20 min,离心去上清,无菌水洗3次,再将沉淀重悬于抗生素溶液(1/1000盐酸万古霉素,1/1000硫酸粘杆菌素和6/1000头孢噻肟钠)中,25℃,黑暗条件下温育1 d,无菌水洗3次,再将沉淀重悬于无菌水中,用

血球计数器计数,并用无菌水将浓度调至 1×10^8 个/mL,4 °C 冰箱中保存备用。

水培法进行根毛侵染的观察:用 1/5 Hoagland 营养液调制的孢子悬浮液水培无菌苗,采集第 2、4、6、8、10、12、14 d 的油菜植株,每个时间点 3 株,将根部流水冲洗 1 h,在显微镜下观察根毛的孢子侵染情况,每株重复三次,每个重复至少计数 100 根根毛记录并计算根毛侵染率。根毛侵染率=(被侵染根毛数/计录根毛数)×100%。

3 结果与分析

3.1 抗性初筛结果

10 种材料油菜根肿菌土法与蘸根法的抗性检

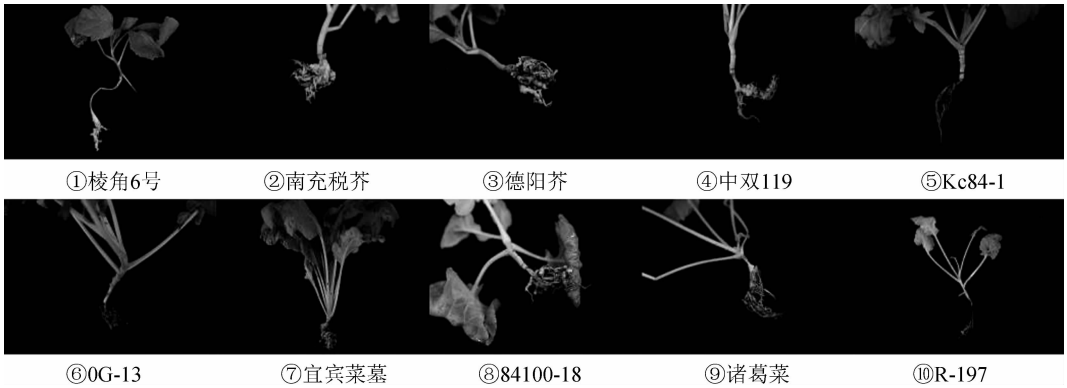


图 1 不同材料的抗性初筛结果

Fig. 1 Initial screening results of resistance to different materials

3.2 三种不同根肿抗性水平的油菜病情调查结果

采用注射法对初筛的抗性材料 Kc84-1 进行病情调查,对照为华中农大育成并已推广的抗性材料华双 5R, R-197 为田间种植确认的易感材料,调查结果见表 2。

表 2 病情调查结果

Tab. 2 The result of clubroot disease incidence investigation

| 材料名称 | 发病率(%) | 病情指数 |
|--------|--------|--------|
| 华双 5R | 38.70B | 7.74B |
| Kc84-1 | 38.46B | 8.79B |
| R-197 | 96.67A | 39.52A |

注:表中显著性分析表示经 LSD 法检验在 $P < 0.01$ 水平的差异显著性, $P < 0.01$ 的显著性用大写字母表示

Note: The significance analysis in the table indicates the significance of the difference at the $P < 0.01$ level by the LSD method, and the significance of $P < 0.01$ is indicated by capital letters

表 2 的病情调查结果显示, Kc84-1 的发病率和病情指数都与华中农大推广的华双 5R 相近, R-197 的发病率和病情指数显著高于其它两种材料。

测,结果显示除 Kc84-1 与 OG-13 的被检植株无明显发病外,其它材料均有可见的根肿生成,如图 1 所示,感病最严重的材料为白菜型的宜宾菜薹,三种芥菜型材料棱角 6 号、南充芥和德阳芥的感病情况也十分明显,根肿体积较大,甘蓝型油菜的感病状程度相对较轻,其中中双 119 和 84100-18 感病相对明显,根部有少量肿块,而 Kc84-1 和 OG-13 在两种接种方式的所有待检植株中均未发现明显的根肿形成,作为候选抗性材料待下一步的验证,甘蓝型中的 R-197 在两种鉴定方式中均表现出幼苗期感染,主根膨大,且未能正常生长的弱苗现象,结合田间表现,确认 R-197 为易感材料。

3.3 不同感病等级植株 SOD、POD、PPO、PAL 活性水平

在进行病情调查时发现三种材料的发病状况各不相同,华双 5R 和 Kc84-1 的感病率相当,但华双 5R 的感病等级普遍较低,处于 1 级, Kc84-1 的感病数量最少,但病株的感病程度差异明显, R-197 属易感材料,多数处在感病程度较高的层次。因此在进行根据感病等级的抗性生理分析时,每种材料不会出现所有的感病等级。

图 2a 表示华双 5R, Kc84-1 和 R-197 处于不同感病时期的 SOD 活性水平。在 D(0) 状态,即未出现感病症状时,华双 5R 的 SOD 活性要远高于其他材料,具有抗性的材料 Kc84-1 的 SOD 活性也明显高于感病材料 R-197,感病等级为 1 时,华双 5R 的 SOD 活性对比感病等级为 0 时有显著升高,且显著高于同一感病等级的抗性材料 Kc84-1 的活性。感病等级为 3 时,抗性材料 Kc84-1 的 SOD 活性显著高于同一感病等级的易感材料 R-197,发病等级为 5 时,只有易感材料 R-197 的发病状况到达

此级别,测定的 SOD 活性相较于同种材料感病等级较轻的植株有显著升高. 抗性材料华双 5R 和 Kc84-1 在同种材料不同感病等级的 SOD 活性,也有同样的特征.

图 2b 表示华双 5R, Kc84-1 和 R-197 在不同感病等级下 POD 的活性,可以看出在各感病等级上三种材料的 POD 活性整体差异不大. 感病等级为 0 时,三种材料的 POD 活性表现为,华双 5R 的高于易感材料 R-197 的高于抗性材料 Kc84-1 的. 感病等级为 1 时,华双 5R 的 POD 活性显著高于 Kc84-1. 感病等级为 3 时 Kc84-1 的 POD 活性显著高于易感材料 R-197. 感病等级为 5 时,易感材料 R-197 的 POD 活性表现相较于感病等级为 3 和 0 时并未有显著变化. 而抗性材料 Kc84-1 的 POD 活性,在感病等级为 3 的植株中较感病等级为 1 的植株中显著升高,但感病等级为 1 和感病等级为 0 的植株没有明显差异. 抗性材料华双 5R 的 POD 活性,感病等级为 1 的植株要显著高于感病等级为 0 的植株.

图 2c 表示华双 5R, Kc84-1 和 R-197 在不同感病等级下 PPO 的活性,三种材料的油菜在不同感病状态下的 PPO 活性总体差异不大. 在感病等级为 0 时,三种材料的 PPO 活性表现为华双 5R 高

于抗性材料 Kc84-1 高于易感材料 R-197. 感病等级为 1 时,华双 5R 的 PPO 活性显著高于 Kc84-1. 感病等级为 3 时,抗性体系 Kc84-1 的 PPO 活性与易感材料 R-197 无显著差异. 感病等级为 5 时,易感材料 R-197 的 PPO 活性水平相较于感病等级为 3 的植株无明显差别,但较于感病等级为 0 的明显升高. 抗性材料华双 5R 和 Kc84-1 的 PPO 活性在同种材料的不同感病等级之间的表现相似:高感病等级的病株 PPO 活性要高于低感病株.

图 2d 表示华双 5R, Kc84-1 和 R-197 在不同的感病等级下 PAL 的活性,在感病等级为 0 时,三种材料的 PAL 活性,抗性材料 Kc84-1 高于抗性材料华双 5R 高于易感材料 R-197. 感病等级为 1 时,抗性材料 Kc84-1 的 PAL 活性显著高于华双 5R. 感病等级为 3 时,抗性材料 Kc84-1 的 PAL 活性显著高于易感材料 R-197. 感病等级为 5 时,易感材料 R-197 的 PAL 活性显著高于感病等级为 0 的但又显著低于感病等级为 1 的. 抗性材料华双 5R 的 PAL 活性,感病等级为 1 的植株要显著感病等级为 0 的,而抗性材料 Kc84-1 的表现类似于易感材料 R-197,即在无明显感病植株和较高感病等级植株中的 PAL 活性均较低,而较低感病等级的 PAL 活性明显较高.

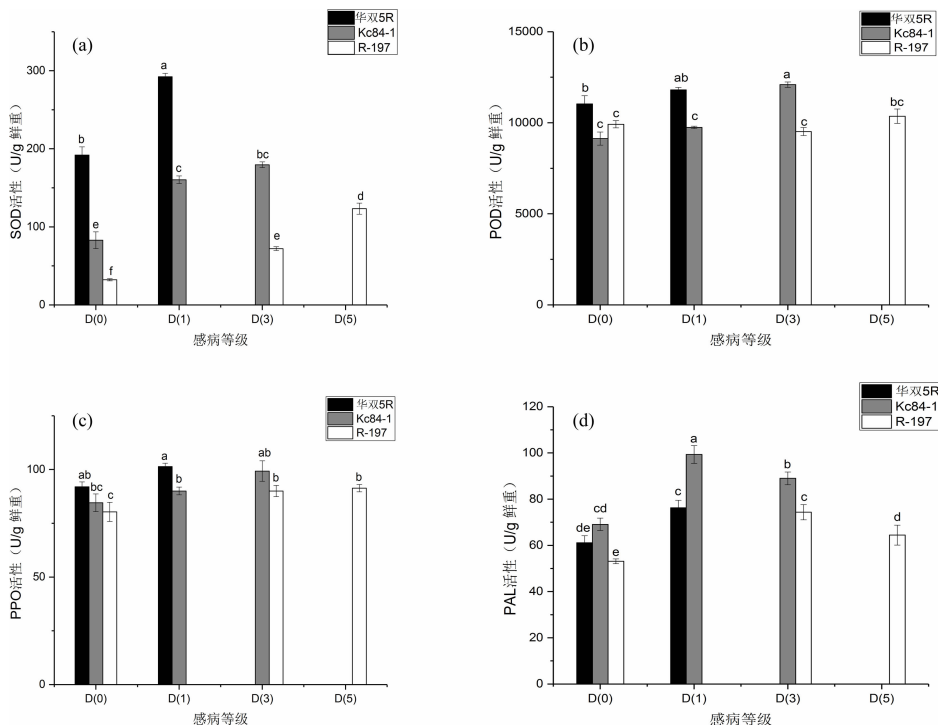


图 2 三种油菜材料在不同感病等级的防御酶活性

图中数据为平均数±标准误. 同色柱上不同字母表示经 LSD 法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著

Fig. 2 Defense enzyme activity of different disease incidence of three materials

Data are mean±SE. Different letters on the bars indicate significant difference at $P < 0.05$ level by LSD test

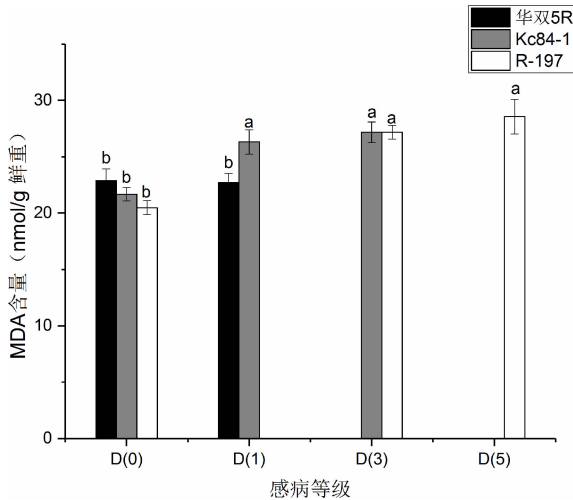


图 3 三种材料不同感病等级 MDA 含量

图中数据为平均数±标准误. 同色柱上不同字母表示经 LSD 法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著

Fig. 3 MDA content of different disease incidence of three materials

Data are mean ± SE. Different letters on the bars indicate significant difference at $P < 0.05$ level by LSD test

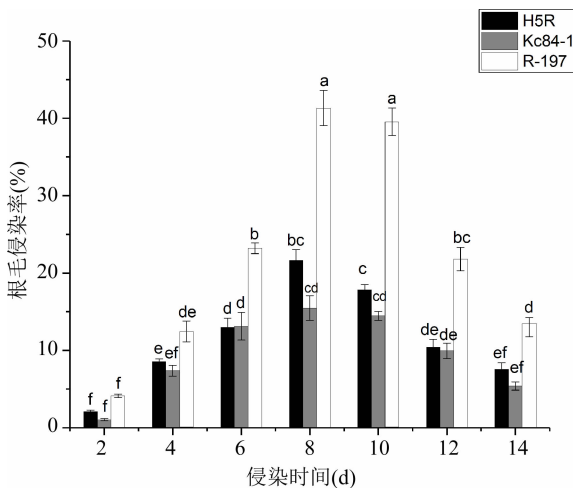


图 4 三种材料接种根肿菌孢子后不同时间点的根毛侵染率

图中数据为平均数±标准误. 同色柱上不同字母表示经 LSD 法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著

Fig. 4 Root hair infecting rate of three materials inoculated with spores of *Plasmodiophora brassicae* at different time points

Data are mean ± SE. Different letters on the bars indicate significant difference at $P < 0.05$ level by LSD test.

3.4 不同感病等级植株 MDA 的含量

图 3 显示华双 5R 和 Kc84-1、R-197 在不同感病等级下 MDA 的含量, 由图可以看出, 在未表现出明显感病症状的 D(0) 时期, 三种材料的 MDA 含量无明显差异. 感病等级为 1 时, Kc84-1 的 MDA 含量显著高于华双 5R. 感病等级为 3 时, 抗性材料 Kc84-1 与易感材料 R-197 的 MDA 含量无

显著差异. 感病等级为 5 时, 易感材料 R-197 的 MDA 含量高于感病等级为 3 的植株, 显著高于感病等级为 0 的植株. 抗性材料 Kc84-1 在感病等级为 3 和 1 时的 MDA 含量无明显差异但显著高于感病等级为 1 的植株, 抗性材料华双 5R 的 MDA 含量在感病等级为 1 的植株中和感病等级为 0 的植株中无明显差异.

3.5 三种材料的根毛侵染观测结果

由图 4 可见, 三种不同抗性材料的根毛侵染率均随侵染时间先上升后下降, 且两种抗性材料华双 5R 和 Kc84-1 的根毛侵染率在根毛侵染的第 6 d 到第 14 d 显著低于感病材料 R-197.

4 讨论

本研究结合油菜(和油菜近缘属)的田间表现对十种可能具有根肿病抗性的材料进行了室内人工鉴定, 为了提高鉴别效率, 采用菌土法和蘸根法两种相对粗放的鉴别方式对不同材料进行了初步筛选, 初筛结果中出现了感病程度较低, 感病株较少, 甚至未发现病株的两种疑似抗性材料, OG-13 和 Kc84-1. 为了进一步确认材料的根肿病抗性, 对照已推广种植的抗根肿病材料华双 5R 和易感材料 R-197 进行抗性水平的病情调查, 在同样接种条件下, 感病材料 R-197 的发病率最高, 为 96.67%, Kc84-1 的发病率为 38.46%, 华双 5R 的发病率为 38.70%. 从病情指数上看华双 5R 为 7.74, Kc84-1 为 8.79, 易感材料 R-197 的病情指数最高, 为 39.52, 由此可以将 Kc84-1 归为抗性材料, 这为后续抗性生理的研究提供了条件. 另一方面, 在发病率较低的两种材料中, Kc84-1 的发病率低, 但病情指数高, 实际在进行病情分级的过程中发现, 华双 5R 和 Kc84-1 的发病状况有所不同, 华双 5R 虽然感病数量多, 但均表现为感病等级低, 即大部分病株只在根毛上产生较小的肿块, 少有主根膨大的现象, 而 Kc84-1 病株率相对华双 5R 高, 但病株的感病等级明显比华双 5R 高.

对三种材料不同感病等级的防御酶活性和抗病相关物质 MDA 含量的检测表明: 抗性材料与感病材料的 SOD 活性水平差异显著, 且抗性高低与 SOD 活性呈现出正相关, 感病等级与 SOD 活性也呈现出正相关. 两种抗性材料华双 5R 与 Kc84-1 的 SOD 活性水平在任何感病等级均显著高于同感病等级的易感材料. POD 活性在抗性材料中的水平也要高于同一感病等级的感病材料. PPO 活性

在抗性材料与感病材料之间没有明显差别. PAL 的活性在感病等级较低的植株中比未明显发病和感病等级较高的植株都高, 表现为随感病等级的增高先上升后下降, 且同一感病等级, 抗性材料的 PAL 活性显著高于感病材料. 而 MDA 的含量, 两种抗性材料变化不同, 华双 5R 的 MDA 含量较低, 不同感病等级中也没有明显变化, 抗病材料 Kc84-1 和感病材料 R-197 的表现较为一致, 这可能暗示 Kc84-1 不同于华双 5R 的抗性机理, 但有待下一步研究. 由于在抗性材料与易感材料之间并没有显著差异, MDA 含量不适合作为油菜根肿病抗性筛选的指标. 综上所述, SOD、POD、PAL 活性水平可以作为油菜根肿病抗性筛选的指标, 而 PPO 活性和 MDA 含量不适合作为抗性筛选指标.

水培法的根毛侵染观察结果表明, 抗性材料华双 5R 和 Kc84-1 的根毛侵染率显著低于易感材料 R-197. 而且, 在根毛侵染的实验中观察到了皮层侵染的发生, 在第 4 d 时已能观察到易感材料 R-197 的皮层侵染, 第 6 天时抗性材料华双 5R 与 Kc84-1 也出现了皮层侵染, 华双 5R 的皮层侵染程度较低, 即进入皮层的孢子数量较少, 而 Kc84-1 的皮层染菌量相对较多, 这些皮层侵染的孢子都是零散的个体, 而易感材料在第 6 d 已能观察到聚成团状的孢子囊. 因此油菜感病早期的根毛侵染率也可以作为根肿病抗性资源筛选的重要指标.

参考文献:

- [1] 李森, 檀根甲, 承河元, 等. 植物抗病性研究现状与前景展望 [J]. 江西农业大学学报, 2002, 24: 731.
- [2] Kageyama K, Asano T, Dixon G R. Life cycle of *Plasmodiophora brassicae* [J]. J Plant Growth Regul, 2009, 28: 203.
- [3] 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]. Mol Plant Pathol, 2012, 13: 105.
- [4] Cavalier-Smith T, Chao E Y. Phylogeny and classification of phylum cercozoa (protozoa) [J]. Protist, 2003, 154: 341.
- [5] 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, 1: 1.
- [6] Donald E C, Porter I J, Lancaster R A. Band incorporation of fluzinam (Shirlan) into soil to control clubroot of vegetable brassica crops [J]. Aust J Expl Agr, 2001, 41: 1223.
- [7] 巩文峰, 岳海梅, 旺姆, 等. 林芝地区大白菜根肿病的药剂防治试验 [J]. 北方园艺, 2012 (12): 165.
- [8] 黄小琴, 柯绍英, 刘勇. 四川省油菜区试材料对根肿病抗性差异研究 [J]. 西南农业学报, 2008, 21: 349.
- [9] 刘勇, 黄小琴, 柯绍英, 等. 四川主栽油菜品种根肿病抗性研究 [J]. 中国油料作物学报, 2009, 31: 90.
- [10] 张仕伟. 十字花科蔬菜根肿病接种甘蓝型油菜研究初报 [J]. 云南农业科技, 2006, 6: 42.
- [11] Schwelm A, Fogelqvist J, Knaust A, *et al.* The *Plasmodiophora brassicae* genome reveals insights in its life cycle and ancestry of chitin synthases [J]. Sci Rep, 2015, 5: 11153.
- [12] 肖崇刚. 甘蓝根肿病菌的生物学特性研究 [J]. 菌物学报, 2002, 21: 597.
- [13] Dixon G R. *Plasmodiophora brassicae* in its environment [J]. J Plant Growth Regul, 2009, 28: 212.
- [14] Tommerup I C, Ingram D S. The life-cycle of *Plasmodiophora brassicae* woron. in brassica tissue cultures and in intact roots [J]. New Phytol, 1971, 70: 327.
- [15] 朱红丽, 肖崇刚, 陈国康, 等. 基于根肿菌早期侵染量的白菜抗性分析 [J]. 植物保护学报, 2015, 42: 510.
- [16] 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 Prot, 2013, 48: 16.
- [17] Jutta L, Astrid S. What can we learn from clubroots: alterations in host roots and hormone homeostasis caused by *Plasmodiophora brassicae* [J]. Eur J Plant Pathol, 2008, 121: 291.
- [18] Keen N T, Williams P H. Translocation of sugars into infected cabbage tissues during clubroot development [J]. Plant Physiol, 1969, 44: 748.
- [19] Rodman J E. A taxonomic analysis of glucosinolate-producing plants, part 1: phenetics [J]. Sys Bot, 1991, 16: 598.
- [20] Lovelock D A, Donald C E, Conlan X A, *et al.* Salicylic acid suppression of clubroot in broccoli (*Brassica oleracea*; var. *italica*) caused by the obligate biotroph *Plasmodiophora brassicae* [J]. Australas Plant Path, 2013, 42: 141.
- [21] David B, Astrid S, Jutta L, *et al.* Induction of tre-

- halase in Arabidopsis plants infected with the trehalose-producing pathogen *Plasmodiophora brassicae* [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2002, 15: 693.
- [22] 况宁宁, 张茹琴, 鄢洪海. 大白菜品种间根肿病抗性鉴定及抗性生理分析 [J]. *北方园艺*, 2012, 11: 140.
- [23] 丁云花, 简元才, 余阳俊, 等. 我国 8 省市十字花科蔬菜根肿病菌生理小种的鉴定 [J]. *中国蔬菜*, 2013, 1: 85.
- [24] 马丹丹, 庞胜群, 丁云花, 等. 甘蓝类蔬菜根肿病抗性鉴定 [J]. *石河子大学学报: 自科版*, 2016, 34: 164.
- [25] Asano T, Kageyama K, Hyakumachi M. Surface disinfection of resting spores of *Plasmodiophora brassicae* used to infect hairy roots of *Brassica* spp. [J]. *Phytopathology*, 1999, 89: 314.

引用本文格式:

中文: 蒋学飞, 岳出, 刘双双, 等. 油菜不同根肿病抗性材料的室内鉴定及相关生理分析 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2019, 56: 573.

英文: Jiang X F, Yue C, Liu S S, *et al.* Laboratory identification of different resistant materials with clubroot and related physiological analysis in rapeseed [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2019, 56: 573.