中国油料作物学报
Chinese Journal of Oil Crop Sciences
2026,48(5):230-239
doi:10.19802/j.issn.1007-9084.2026070

油菜根溃疡病的发生危害调查与影响其流行的气候因子分析

朱惠敏[1],管青霞[2],李永红[3],刘寒冰[1],郭昭宇[1],李国庆[1],吴明德[1],杨龙[1],张静[1*]
(1. 湖北省作物病害监测与安全控制重点实验室,华中农业大学,湖北 武汉,430070;
2. 陇西县种子站,甘肃 陇西,748199;
3. 陕西省杂交油菜研究中心,陕西 杨凌,712100)

摘要:油菜根溃疡病是在甘肃省陇西县发现的一种新病害。本研究在2021-2024年调查了油菜根溃疡病的田间症状、危害损失、症状出现的时空动态以及与*L. sclerotioides*侵染的关系,分析了温度对这一病害发生的影响;此外,还监测了苜蓿和小麦上*L. sclerotioides*的发生情况。结果表明,在陇西县高海拔(>2000 m)地区,油菜根溃疡病对白菜型冬油菜可造成毁灭性损失,重病田发病株率达到100%,病情指数达到75.9~97.6。腐烂根组织变黑,凹陷,表面着生大量颗粒状黑色菌核(分生孢子器前体结构),主根严重腐烂时,油菜植株失去返青生长能力。而主根局部腐烂的油菜植株则可以返青生长、开花、结实,腐烂症状和*L. sclerotioides*菌核仅停留在主根上,没有蔓延至茎秆、枝条和角果。季节发生动态的监测结果表明,油菜根溃疡病仅发生在越冬期(2-4月),这一期间以及越冬前期的持续低温(月均气温3.5℃~13.0℃,月均土温5.3℃~15.2℃)可能是诱发其发生的重要因子。从罹病油菜根组织中分离得到135个真菌分离物。形态和分子鉴定结果表明,它们均属于*L. sclerotioides*。此外,在苜蓿和冬小麦根样品中也检测到*L. sclerotioides*的存在。据作者所知,这种真菌在我国苜蓿和小麦上发生尚属首次发现。

关键词:白菜型冬油菜;油菜根溃疡病;拟菌核小球腔菌;发生规律;低温
中图分类号:S435.654　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1007-9084(2026)05-0230-10

Surveys for damages caused by rapeseed root canker and analysis of climatic factors influencing its epidemics

ZHU Hui-min[1], GUAN Qing-xia[2], LI Yong-hong[3], LIU Han-bing[1], GUO Zhao-yu[1], LI Guo-qing[1], WU Ming-de[1], YANG Long[1], ZHANG Jing[1*]
(1. *Key Laboratory of Plant Pathology of Hubei Province, Huazhong Agricultural University, Wuhan* 430070, *China*; 2. *Longxi County Seed Station, Longxi* 748199, *China*; 3. *Shaanxi Hybrid Rapeseed Research Center, Yangling* 712100, *China*)

Abstract: Rapeseed root canker (RRC) is a newly discovered disease in Longxi County, Gansu Province, China. It is closely associated with infection by ascomycetous fungus *Leptosphaeria sclerotioides*. However, the epidemiology and damage of the disease on rapeseed growth and development remained unknown. This study characterized the field symptoms and spatiotemporal dynamics of RRC and investigated its damage on growth and development of rapeseed as well as the influence of climatic factors on RRC such as temperature. Additionally, occurrence of *L. sclerotioides* on alfalfa and wheat was monitored. The results showed that in high-altitude areas (>2000 m) in Longxi, RRC caused a devastating loss on recovery growth of rapeseed from overwintering. In severely infected fields, the disease incidence reached 100% with disease indices at 75.9 to 97.6. Infected roots appeared black in color with sunken cankers, and abundant black sclerotia (e.g. precursors of *L. sclerotioides* pycnidia) were produced

收稿日期:2026-03-04
基金项目:国家重点研发计划项目(2024YFD1400800);定西市科技计划项目(DX2024BR018);国家油菜产业技术体系黑胫病防控岗位(CARS-12)
作者简介:朱惠敏(2000-),女,农业硕士,研究方向为油菜病害防控,E-mail: 2067244131@qq.com
*通讯作者:张静(1981-),博士,副教授,研究方向为植物病原真菌生物学及其生物防治,E-mail: zhangjing1007@mail.hzau.edu.cn

on roots surface. Plants with severely-rotted taproots lost ability to regrow in spring, while those with partially rotted taproots could resume growth and develop to maturity. However, the rot symptoms and *L. sclerotioides* were limited on the taproots without spreading to stems or pods. Seasonal monitoring revealed that RRC occurred only at overwintering period from February to April. Consistent low temperatures (monthly average air temperatures from 3.5°C to 13.0°C with monthly average soil temperature from 5.3°C to 15.2°C) during that period might be an important factor inducing occurrence of RRC. A total of 135 fungal isolates were obtained from diseased roots, and they were identified as *L. sclerotioides* based on morphology, as well as molecular detection with specific PCR primers and phylogeny based on ITS sequences. These findings indicated that RRC is an important disease for rapeseed seedling overwintering in high-altitude regions of Longxi County. Furthermore, *L. sclerotioides* was detected in alfalfa and winter wheat, which might be the first report of this pathogenic fungus on these two crops in China.

Key words: *Brassica rapa* winter rapeseed; rapeseed root canker; *Leptosphaeria sclerotioides*; epidemiology; low temperature

油菜是一种多功能经济作物,主要用于生产食用油(菜籽油),也是重要的蜜源植物,还可用作蔬菜和绿肥。我国每年油菜播种面积约700万公顷,油菜籽年产量约1300~1500万吨[1]。为满足国内菜籽油需求,我国每年需要从加拿大和澳大利亚等国家进口300~600万吨油菜籽。为保证食用植物油供给安全,近年来,我国政府出台了一系列文件,力争通过实施“扩面积、提单产、保安全”等策略及相关技术措施,扩大油菜作物产能。

侵染性病害是影响油菜产业安全的重要生物灾害。在长江中下游流域冬油菜产区,最重要的生物灾害是菌核病和根肿病,前者由核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)引起,后者由芸薹根肿菌(*Plasmodiophora brassicae*)引起。在我国北方和西北方春油菜产区,已报道的重要生物灾害是茎象甲和蚜虫等害虫,而对侵染性病害及其危害研究较少[2]。

在监测春油菜产区油菜病害的过程中,课题组在甘肃省陇西县油菜上发现了一种根腐病[3],将其命名为油菜根溃疡病(rapeseed root canker),以区分镰刀菌(*Fusarium*)引起的油菜根腐病。Shang等2023年从患油菜根溃疡病病组织中分离到拟菌核小球腔菌 *Leptosphaeria sclerotioides* de Gruyter, Aveskamp & Verkley(无性态是拟菌核茎点霉 *Phoma sclerotioides* Sacc.,异名是 *Plenodomus meliloti* Dearness & Sanford)[3]。在武汉市进行的致病力测定结果表明,*L. sclerotioides* 可以在油菜(*Brassica napus*)根围和根表定殖,并形成大量菌核,但不能引起油菜根腐烂[3]。因此,*L. sclerotioides* 侵染油菜根可能需要特定的环境条件(如持续低温)。

前人研究表明,*L. sclerotioides* 引起苜蓿根褐腐病(brown root rot),需要持续低温或积雪覆盖营造的环境条件[4,5]。Davidson(1990)在 *Compendium of Alfalfa Diseases* 一书中记录了一种芸薹属植物(*Brassica* sp.)残体上存在 *L. sclerotioides*,认为是一种腐生菌(saprophyte)[6]。迄今,没有发现有关 *L. sclerotioides* 危害油菜及其流行规律的报道。鉴此,我们在2021-2024年期间,对陇西县油菜根溃疡病的危害状况以及季节发生动态进行了调查研究,并采用形态观察和分子鉴定手段,对油菜、苜蓿和小麦来源的 *L. sclerotioides* 分离物进行鉴定,以加深对这一病害发生及流行规律的认识。

1 材料与方法

1.1 越冬后返青期油菜根溃疡病发生危害调查

调查时间为2023年4月18日和2024年3月10日至4月19日。彼时,油菜处于越冬后返青生长至抽薹期。调查地点包括陇西县(巩昌镇、永吉乡、文峰镇),武山县桦林镇、甘谷县以及天水市秦州区中梁镇。调查地块种植的油菜均为白菜型冬油菜(*Brassica rapa* subsp. *oleifera*)。

在每一块调查的油菜田,随机选取3个小区(面积1 m^2),小心挖取枯死和未枯死的油菜植株,检查主根发病情况,诊断依据是病组织黑色腐烂,且病组织上产生大量的黑褐色菌核。根据主根发病与否以及溃烂面积占根面积的百分比,将主根分成0、1、2、3、4和5级,其中,0级为健康根;1~5级为发病根,分别代表主根腐烂组织面积占根总面积的1%~10%、11%~30%、31%~50%、51%~80%和81%~100%。根据调查样点发病植株数、调查的总植株数以及病害严重度级值等数据,计算发病株率和病情指数。同时,将典型病根装入塑料袋中,编号后带回华中农业大学实验室,从中分离病原菌[3]。

1.2 收获期油菜根溃疡病的发生及危害调查

调查时间是2021年6月12日和2023年6月14日,油菜处于成熟期。调查地点是陇西县巩昌镇越胜村(104°30′E/34°54′N,海拔约2095 m)。选择返青期调查的重病田块,再次调查油菜根、茎秆、枝条和角果上是否存在*L. sclerotioides*侵染。在2021年和2023年的两次调查中,分别随机选取7个和3个调查点。在每一个调查点,随机调查100株油菜,连根拔起,逐株检查油菜根、茎秆、枝条和角果是否发病,以组织腐烂且产生*L. sclerotioides*菌核为依据,诊断是否存在*L. sclerotioides*侵染。将疑似发病的油菜根、茎秆、枝条和角果剪下,装入塑料袋中,带回华中农业大学实验室,分离其中的真菌[3]。在调查中发现了茎秆上发生了油菜黑胫病,于是,对这一病害也进行了调查,将发病植株记为1,健康植株记为0,根据发病植株数占调查植株总数计算发病株率。同时,剪下典型发病茎秆,带回华中农业大学实验室,分离并鉴定其中的真菌。

1.3 油菜根溃疡病的季节发生动态调查

试验布置在陇西县巩昌镇越胜村,2020-2022年,该地区田块油菜根溃疡病发生严重,连续种植两季白菜型冬油菜发病株率高于90%。2023年8月23日,播种品种为白菜型油菜天油8号之后,分别于2023年10月31日、11月30日和2024年2月26日、3月30日、4月17日、6月29日调查油菜根溃疡病发生情况,调查方法与返青期相同,记录调查样点发病植株数和病害严重度。

为了分析气象因素对油菜根溃疡病发生的影响,从陕西省咸阳市杨陵区气象局获得了陇西县2023年8月至2024年6月期间的气象数据,包括日均气温、土温(10 cm土层)和降雨量,计算月平均气温、月平均土温和月累计降雨量,并分析这些气象指标对油菜根溃疡病发生的影响。

1.4 油菜根溃疡病病菌的分离与鉴定

采用组织分离法从油菜、苜蓿和小麦主根病健交界处取组织块,分离真菌。分离培养基是马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA),组织块消毒方法参考文献[3]。从2021-2024年采集的油菜、苜蓿和小麦样品中共分离得到132株产生黑色分生孢子器的真菌,其菌落形态以及分生孢子器和分生孢子形态均与*L. sclerotioides*类似,推测它们属于*L. sclerotioides*。在本研究中,仅挑取代表性菌株,用于鉴定,以验证其分类属性。代表性菌株包括:9株来自油菜(LN3-40、LN3-52、LN3-89、LN3-109、LN3-161、LN3-166、LN3-305、LN3-390、21),5株来自苜蓿(MX-1、MX-2、MX-4、MX-5、MX-6),2株来自小麦(XM11-2、XM12)。以*L. sclerotioides*菌株P9和P10为参考菌株[7]。

1.4.1 培养特征观察 将各菌株接种至PDA平板上,在20℃下培养5 d。用打孔器在菌落边缘切取菌饼(直径5 mm),将菌饼接种至PDA平板上(直径8.5 cm),每皿接种1个菌饼,每菌株接种5个平板(5次重复)。将平板置于20℃黑暗条件下培养14 d,测定菌落直径,观察菌落颜色以及分生孢子器和分生孢子形态。

1.4.2 分子鉴定 将上述各菌株分别接种在PDA平板上,在20℃下培养10 d,用打孔器在菌落边缘打取菌饼(直径5 mm)。每个菌株取5个菌饼,转移至1个塑料离心管中(容积2.0 mL),往每只离心管中放1枚小钢珠,将离心管放置在全自动磨样仪中,启动磨样程序,将菌饼磨成粉末。之后,往每只离心管中加800 μL预热(65℃)CTAB溶液。将离心管置于65℃水浴中处理20~40 min,其间颠倒混匀2~3次。往离心管中加入Tris-苯酚400 μL和氯仿400 μL,混匀,在4℃下离心10 min(12 000 r/min)。用移液器小心吸取上清液400 μL至另一离心管中,加入等体积氯仿,混匀,在4℃下离心10 min(12 000 r/min)。将上清液转移至另一离心管(1.5 mL)中,加等体积无水乙醇,在-20℃下沉淀DNA,在4℃下离心10 min(12 000 r/min),弃上清液,往沉淀物中加70%乙醇600 μL,悬浮洗涤DNA,最后离心沉淀DNA,弃上清液,在室温下将DNA沉淀干燥,溶于20~50 μL去离子水中,用1%琼脂糖凝胶电泳检测提取的DNA质量。用去离子水将合格提取物中的DNA浓度稀释至~50 ng/μL,并保存在-20℃下备用。

以各菌株的DNA为模板,用*L. sclerotioides*特异性引物PSB12-FS/PSB12-RS介导的PCR扩增499 bp的DNA片段,正向引物PSB12-FS的核苷酸序列:5'-CCTTGACGCACAGAGAATGATTGG-3',反向引物PSB12-RS的核苷酸序列:5'-CCTTGACGCATGTTAGCATAAAATCC-3'[8]。PCR反应程序参考文献[3]。反应结束之后,用1%(*m*/*V*)琼脂糖凝胶电泳检测PCR产物[3]。

为了验证上述PCR检测的鉴定结果,用引物ITS1/ITS4(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'和5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'[9])扩增各菌株ITS片段,反应程序同文献[3]。反应结束之后,将PCR产物送至武汉天一华煜基因科技有限公司测序,获

得各菌株的ITS序列,并将其提交至NCBI中的GenBank数据库(http://www. ncbi. nlm. nih. gov/blast),获得登录号(表1)。用获得的ITS序列在NCBI数据中进行BLAST检索,获得与之亲缘关系最近的真菌ITS序列,将其作为参考序列(表1)。用DNAMAN软件比对ITS序列,然后用MEGA7. 0软件中的邻接法(Neighbor-Joining)构建系统进化树,Bootstrap值设置为1000,根据待测菌株在进化树中的位置推定其分类地位。

1. 5 苜蓿和小麦上拟菌核小球腔菌的分离与鉴定

前人研究表明,*L. sclerotioides*可以危害苜蓿[10]和小麦[11]。在2024年3月30日调查油菜根溃疡病的过程中,在陇西县越胜村,发现油菜地旁边种有苜蓿和冬小麦。在苜蓿地,随机挖取一株返青生长的苜蓿植株,检查主根发病情况,切下带有褐色溃疡斑的主根,装于塑料袋中。在冬小麦田,拔取叶片黄化的小麦植株,装于塑料袋中。将采集的苜蓿和小麦带回华中农业大学实验室。采用组织分离法分离其中的真菌[3]。采用菌落形态观察、PCR检测特异性DNA标记(499 bp)和ITS序列分析等方法鉴定苜蓿和小麦来源的真菌分离物。

2 结果与分析

2. 1 越冬后返青期油菜根溃疡病的发生及危害

2023和2024年冬油菜越冬后的返青生长期,在陇西县巩昌镇越胜村、牙河村和崖湾村以及永吉乡堡子坡村等地均发现油菜根溃疡病发生。在高海拔村庄(如越胜村、牙河村,海拔高度超过2000 m)的轻病田(如田块#1)或无病田块,油菜已经返青生长、部分植株已经抽薹并开花(图1A)。而在重病田块(田块#2~7),仅有零星植株返青抽薹,但鲜见开花(图1B)。随机在重病田块挖出油菜植株,发现肉质膨大的油菜主根(适应越冬)出现局部溃疡腐烂或完全溃疡腐烂(图1C、图2A-C),发病株率达到100%,病情指数达到75. 9~97. 2(表2)。在腐烂根组织表面着生大量的黑褐色圆形颗粒状菌核(图2B、C)。农民不得不将这些重病田油菜植株毁青,改种胡麻或土豆等春季作物。在陇西县低海拔村庄(崖湾村、何家门村、火焰村,海拔高度低于1800 m),油菜根溃疡病零星发生(发病株率为1%)或没

表1 供试小球腔菌(*Leptosphaeria*)菌株ITS序列及其GenBank登录号

Table 1 GenBank accession numbers of ITS for the *Leptosphaeria* isolates

真菌种及菌株* *Leptosphaeria* isolate and strain	寄主植物 Host plant	来源国家 Source	登录号 GenBank accession
***Leptosphaeria sclerotioides* 21**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327511
***L. sclerotioides* LN3-40**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327512
***L. sclerotioides* LN3-52**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327513
***L. sclerotioides* LN3-89**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327514
***L. sclerotioides* LN3-109**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327516
***L. sclerotioides* LN3-161**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327515
***L. sclerotioides* LN3-166**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327508
***L. sclerotioides* LN3-305**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327509
***L. sclerotioides* LN3-390**	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	PQ327510
***L. sclerotioides* MX-1**	苜蓿 *Medicago sativa*	中国 China	PQ327517
***L. sclerotioides* MX-2**	苜蓿 *Medicago sativa*	中国 China	PQ327518
***L. sclerotioides* MX-4**	苜蓿 *Medicago sativa*	中国 China	PQ327519
***L. sclerotioides* MX-5**	苜蓿 *Medicago sativa*	中国 China	PQ327520
***L. sclerotioides* MX-6**	苜蓿 *Medicago sativa*	中国 China	PQ327521
***L. sclerotioides* XM11-2**	小麦 *Triticum aestivum*	中国 China	PQ460233
***L. sclerotioides* XM12**	小麦 *Triticum aestivum*	中国 China	PQ460234
L. sclerotioides P9	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	MT996499
L. sclerotioides P10	白菜型油菜 *Brassica rapa*	中国 China	MT996500
L. sclerotioides CBS 144.84	苜蓿 *Medicago sativa*	加拿大 Canada	JF740192
L. sclerotioides CBS 148.84	苜蓿 *Medicago sativa*	加拿大 Canada	JF740193
L. errabunda CBS 129997	欧蓍草 *Achillea millefolium*	荷兰 Holland	MH865603

注:*字体加粗的菌株来自本研究

Note: The strains in bold are from this study

有发生(表2)。此外,在天水市武山县、甘谷县和秦州区的低海拔田块(海拔高度低于1600 m),多数调查田块没有发现油菜根溃疡病,少数调查田块零星发生油菜根溃疡病,发病株率低于1%。

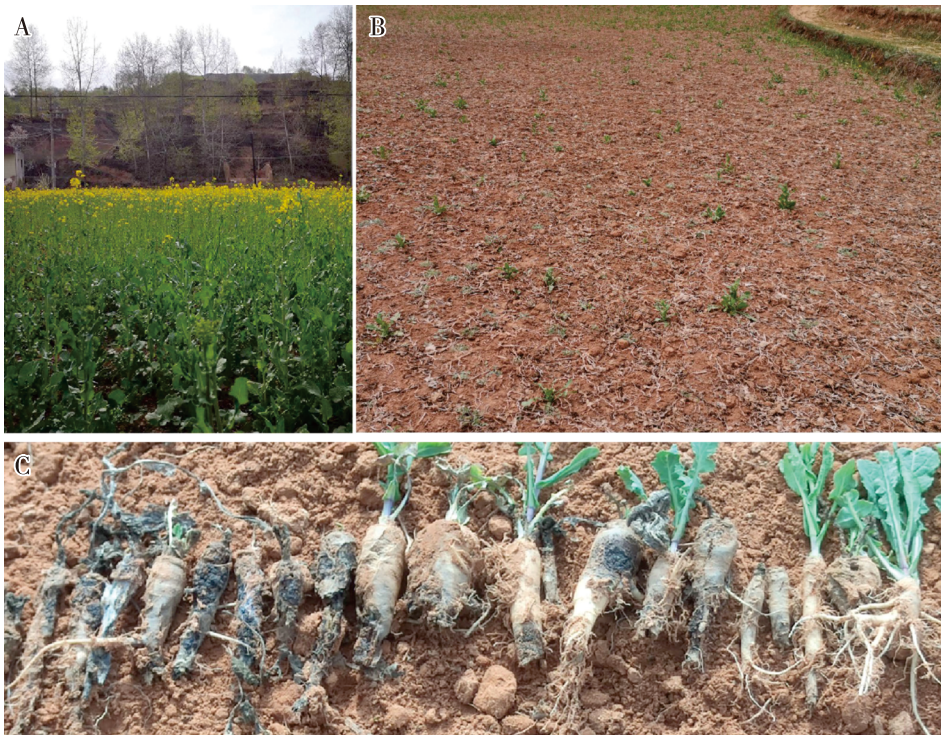
2.2 收获期油菜根溃疡病的发生

在2021年6月和2023年6月,调查了油菜根溃疡病的发生及其向地上部器官(茎、枝条、角果)扩展的情况。在2021年,共在油菜根溃疡病重病田调查了700株油菜,没有发现*L. sclerotioides*危害地上部器官。调查结果还表明,油菜茎秆上有黑胫病发生,典型症状是黑胫病菌在发病茎秆组织表面产生大量分生孢子器。从个体大小看,*L. biglobosa*分生孢子器的直径为0.2~0.3 mm,较*L. sclerotioides*菌核(直径1.0~1.7 mm)小得多。在7个调查样点中,6个样点发现黑胫病,发病株率为22%~74%,平均为35%。从采集的7份油菜主根样品中分离到9株真菌。分子鉴定结果表明,3株真菌(GS1、GS2、GS4)属于*L. sclerotioides*,另外6株真菌属于*L. biglobosa*。可见,成株期油菜主根上存在*L. sclerotioides*和*L. biglobosa*,但在茎秆上仅存在*L. biglobosa*,没有发现*L. sclerotioides*。

在2023年,调查了300株油菜(2021年调查田块),发现45株(占15%)油菜主根呈现局部溃疡病症状,包括根组织溃疡,凹陷,病部表面着生菌核,显然与*L. sclerotioides*的发生相关。但是,在这些植株的地上部器官(茎秆、枝条、角果)上,没有发现*L. sclerotioides*发生的迹象。在另外255株油菜的主根及地上部器官上,也没有发现*L. sclerotioides*侵染及危害的迹象。调查发现茎秆上有黑胫病发生,发病株率为23%。综合2021和2023年的调查结果,可以看出,*L. sclerotioides*对油菜茎秆、枝条和角果等地上部器官没有构成危害,但油菜茎秆上持续发生黑胫病。

2.3 油菜根溃疡病的季节发生动态

试验在2023-2024油菜生产季进行,2023年8月26日播种(品种为天油8号),2024年6月29日收获。调查结果表明,在油菜幼苗生长期(2023年9-11月),没有发现根溃疡病发生(图3)。随后,油菜进入越冬期,地上部叶片枯死,仅生长点活着。由于冬季土壤封冻,2023年12月和2024年1月未开展根溃疡病调查。之后,调查恢复,在2024年2月始见根溃疡病,发病株率为33%,严重度为1级(局部



注:**A**:轻病田,油菜植株越冬后恢复生长,进入初花期;**B**:重病田,大部分油菜植株枯死,少数植株返青;**C**:重病田块油菜根溃疡病发病植株

Note: A: field with low disease severity with plants resuming re-growth and flowering; B: field with high disease severity with numerous dead plants and only a few plants showing re-growth; C: diseased rapeseed plants in a severely infected field

图1 油菜根溃疡病田间症状(甘肃省陇西县巩昌镇越胜村,2023年4月)

Fig. 1 Field symptoms of rapeseed root canker (Yuesheng Village, Gongchang Town, Longxi County, Gansu Province, April, 2023)



注:**A**:主根上形成黑色溃疡斑,地上部恢复生长;**B**:局部溃疡,组织凹陷,表面着生黑色菌核;**C**:主根完全腐烂,根表着生菌丝和菌核

Note: **A**: small black cankers on the taproot with re-growth of the seedlings; **B**: localized taproot canker displaying blackened, sunken tissue and numerous black sclerotia on the surface; **C**: completely rotted taproot showing whitish mycelia and abundant sclerotia on the surface

图2 油菜根溃疡病的症状

Fig. 2 Symptoms of rapeseed root canker

溃疡)。在2024年3月和4月,根溃疡病发生率快速上升,发病株率分别上升至57%和93%,严重度分别上升至3级和4.5级。在2024年6月,油菜接近成熟,67%的油菜主根表现为局部腐烂,组织凹陷,表面着生菌核,显然这是*L. sclerotioides*发生的痕迹。但是,在这些植株的茎秆、枝条和角果上却没有观察到*L. sclerotioides*发生的迹象。这些结果说明,油菜根溃疡病发生在油菜越冬期至返青期(2-4月),*L. sclerotioides*对油菜地上部器官没有构成危害。

2.4 温度和降雨量对油菜根溃疡病发生的影响

在2023-2024年油菜生产季,陇西县月均气温为9.0℃,月均土温为11.7℃(10 cm土层),累计降雨量334.0 mm(图3)。2023年8-12月是油菜出苗和幼苗生长期,月均气温、月均土温和月累计降雨量等指标逐月下降。月均气温从是21.7℃下降至-2.6℃、月均土温从26.0℃下降至-1℃,月累计降雨量从35.5 mm至0.3 mm。在此期间,没有观察到油菜根溃疡病发生。2023年12月至2024年4月是油菜越冬期和返青期,月均气温、月均土温和月累计降雨量等指标逐月上升,月均气温从-2.6℃上升至13.0℃、月均土温从-1.0℃上升至15.2℃,月累计降雨量从3.0 mm上升至63.2 mm。在此期间,持续监测到油菜根溃疡病发生,发病率从33%上升至93%。2024年4月和6月,油菜抽薹、开花、角果发育并成熟。月均气温和月均土温继续上升,月均气温从13.0℃上升至20.0℃,月均土温从15.2℃上升23.7℃,月累计降雨量维持在23 mm以上。在此期

表2 油菜根溃疡病发病率和病情指数(2023)

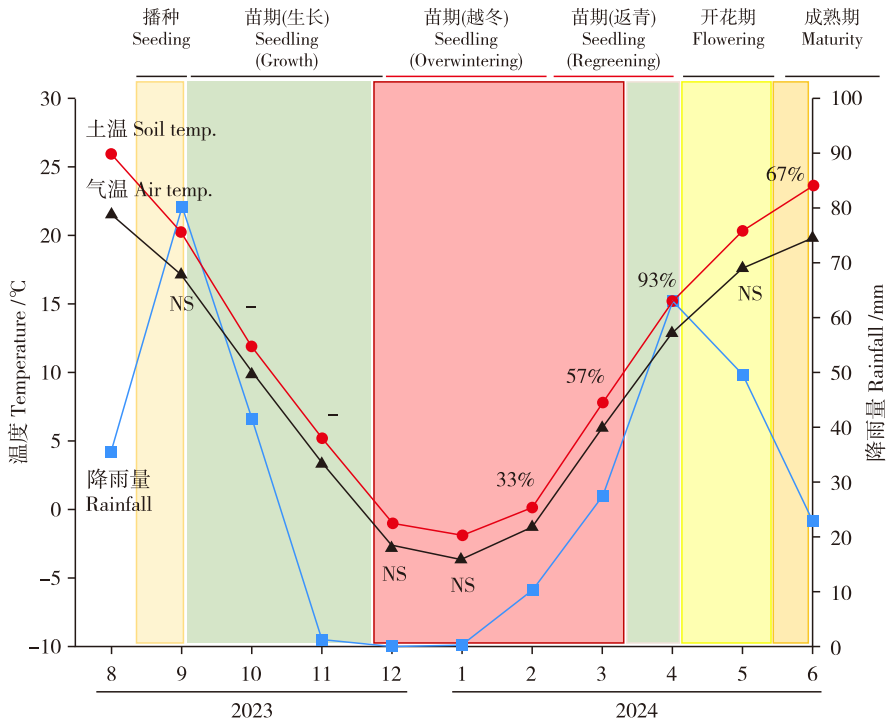
Table 2 Disease incidence and severity indices of rapeseed root canker (2023)

调查地点 Survey sites	海拔高度及坡向 Elevation and aspect	发病率 Disease incidence /%	病情指数 Disease index
甘肃省定西市陇西县 Longxi County, Dingxi City, Gansu Province			
巩昌镇越胜村(田块#1) Yuesheng Village, Gongchang Town(Field#1)	2093 m,阳坡 Sunny aspect	16	19.3
巩昌镇越胜村(田块#2) Yuesheng Village, Gongchang Town(Field#2)	2084 m,阴坡 Shady aspect	100	75.9
巩昌镇越胜村(田块#3) Yuesheng Village, Gongchang Town(Field#3)	2087 m,阴坡 Shady aspect	100	97.2
巩昌镇越胜村(田块#4) Yuesheng Village, Gongchang Town(Field#4)	2053 m,阴坡 Shady aspect	100	93.7
巩昌镇牙河村(田块#5) Yahe Village, Gongchang Town(Field#5)	2018 m,阴坡 Shady aspect	100	91.2
巩昌镇牙河村(田块#6) Yahe Village, Gongchang Town(Field#6)	2021 m,阴坡 Shady aspect	100	97.6
巩昌镇牙河村(田块#7) Yahe Village, Gongchang Town(Field#7)	2021 m,阴坡 Shady aspect	100	100
巩昌镇崖湾村(田块#8) Yawan Village, Gongchang Town(Field#8)	1858 m,阳坡 Sunny aspect	1	未分级 Ungraded
永吉乡何家门村 (田块#9) Hejiamen Village, Yongji Town(Field#9)	1948 m,阳坡 Sunny aspect	1	未分级 Ungraded
永吉乡何家门村(田块#10) Hejiamen Village, Yongji Town(Field#10)	1761 m,阳坡 Sunny aspect	0	0
文峰镇火焰村(田块#11) Huoyan Village, Wenfeng Town(Field#11)	1575 m,河谷 Valley	0	0
甘肃省天水市武山县 Wushan County, Tianshui City, Gansu Province			
桦林镇牛庄村(田块#12) Niuzhuang Village, Hualin Town(Field#12)	1520 m,河谷 Valley	0	0
鸳鸯镇何家庄村(田块#13) Hejiazhuang Village, Yuanyang Town (Field#13)	1521 m,河谷 Valley	< 1	未分级 Ungraded
甘肃省天水市甘谷县(田块#14) Gangu County, Tianshui City, Gansu Province(Field#14)	1259 m,河谷 Valley	0	0
甘肃省天水市秦州区中梁镇(田块#15) Zhongliang Town, Qinzhou District, Tianshui City, Gansu Province(Field#15)	1575 m,阳坡 Sunny aspect	0	0

间,没有观察到油菜根溃疡病从根部蔓延至茎秆、枝条和角果等地上部器官。这些结果说明,2023年11月至2024年4月的持续低温是诱发冬油菜根溃疡病发生的重要因子。

2.5 真菌分离物的鉴定

采用组织分离法,从陇西县采集的油菜根溃疡病样品中共分离得到125株真菌。在PDA平板上(20℃),这些真菌形成的菌落与*L. sclerotioides*菌株P9和P10菌落相似。从中随机挑选9株真菌(LN3-40、LN3-52、LN3-89、LN3-109、LN3-161、LN3-166、LN3-305、LN3-390、21),根据形态特征和ITS序列鉴定其分类属性。在PDA平板上,这些菌株的生长速率为1.7~2.0 mm/d(20℃),培养14 d后,菌落直径达到50~60 mm。菌落正面的菌丝白色,短绒毛状,致密,菌落背面产生黄褐色色素;分生孢子器黑色,颗粒状,分生孢子黏液乳白色,分生孢子胶囊状,长4.5~5.5 μm,宽2.0~2.1 μm。特异性PCR引物PSB12-FS/PSB12-RS[8]检测结果表明,从菌株P9和P10(*L. sclerotioides*)[3]以及上述9株真菌中均扩增出了499 bp的DNA条带(图4)。这一结果说明,这9株真菌属于*L. sclerotioides*。用通用引物ITS1/ITS4介导的PCR获得了这9株真菌的ITS序列(表1)。



注:–表示没有根溃疡病发生;NS表示土壤冻结,没有开展病害调查;不同颜色表示不同油菜生长阶段

Note: – indicates no occurrence of rapeseed root canker; NS indicates no disease survey due to soil freezing; Different color blocks indicate different growth stages of rapeseed

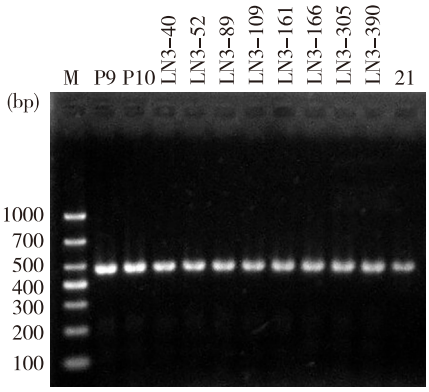
图3 油菜生育期平均气温、土温和降雨量及其与油菜根溃疡病发生的关系(2023–2024)

Fig. 3 Average air temperature, soil temperature, and rainfall during rapeseed producing season (2023–2024) and their relationship with occurrence of rapeseed root canker

基于ITS序列构建了系统发育树,供试9株真菌与*L. sclerotioides*参考菌株CBS148.84、P9和P10等聚在同一个分支(图5),进一步说明这9株真菌属于*L. sclerotioides*。

2.6 苜蓿和小麦分离物的鉴定

在采集的苜蓿根和小麦根上没有发现明显的根腐症状,但可见根部形成黑色坏死斑点。从苜蓿根中分离得到5株真菌(MX-1、MX-2、MX-4、MX-5、MX-6),从小麦根中分离得到2株真菌(XM11-2、XM12)。在PDA平板上,这7株真菌形成的菌落与P9和P10菌落相似,菌落正面白色,短绒毛状,致密,后期产生黑色分生孢子器,菌落背面黄褐色色

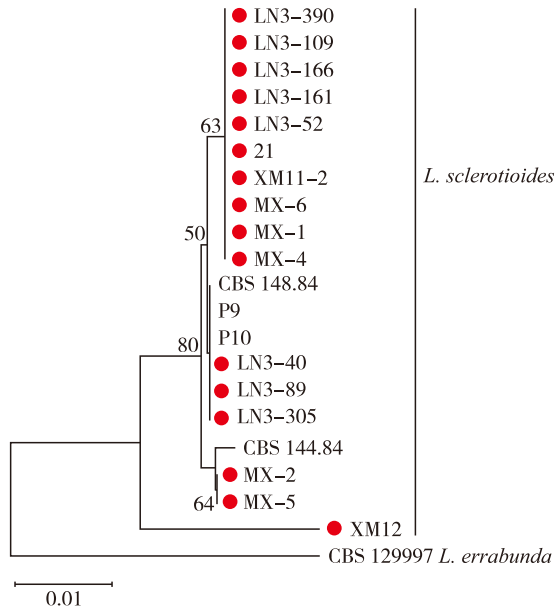


注:泳道M = 1 kb DNA marker;泳道P9, P10, LN3-40, LN3-52, LN3-89, LN3-109, LN3-161, LN3-166, LN3-305, LN3-390, 21 = 菌株P9, P10, LN3-40, LN3-52, LN3-89, LN3-109, LN3-161, LN3-166, LN3-305, LN3-390, 21的特异性PCR检测

Note: ML 1 kb DNA marker; Lane P9 to 21: strain P9, P10, LN3-40, LN3-52, LN3-89, LN3-109, LN3-161, LN3-166, LN3-305, LN3-390, 21, respectively

图4 拟茎核小球腔菌(*Leptosphaeria sclerotioides*)特异性PCR的检测

Fig. 4 PCR detection on representative isolates of *Leptosphaeria sclerotioides* from diseased rapeseed taproots



注:比例尺长度指示核苷酸替代比例

Note: Scale bar indicates proportion of the number of nucleotide substitutions

图5 基于ITS序列构建的20个拟菌核小球腔菌(*Leptosphaeria sclerotioides*)菌株和1个*Leptosphaeria errabunda*菌株(外群)的系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic treeconstructed based on ITS sequences of 20 isolates of *Leptosphaeria biglobosa* and 1 isolate of *Leptosphaeria errabunda* as outgroup

素。用特异性PCRPSB12-FS/PSB12-RS从上述7株真菌中均扩增出了499 bp的DNA片段。同时,这些菌株的ITS序列与*L. sclerotioides*菌株P9和P10等参考菌株的ITS序列一致性高达97%,在进化树中它们聚成一个分支。其中,3个苜蓿菌株(MX-1、MX-4、MX-6)和1个小麦菌株(XM11-2)与6个油菜菌株(21、LN3-52、LN3-109、LN3-161、LN3-166、LN3-309)的亲缘关系最近(图5)。这些结果说明,苜蓿和小麦来源的7株真菌属于*L. sclerotioides*。

3 讨论

油菜根溃疡病(也称油菜根黑腐病)是近年来报道的一种新病害[3]。在本研究中,通过2021-2024年的田间调查,明确了油菜根溃疡病对油菜生产的危害。在甘肃省陇西县高海拔地区,这种病害对白菜型冬油菜可造成毁灭性损失,致使当地农民将重病田的油菜苗毁青,改种胡麻和土豆等夏季作物。这种病害的致害机制是造成油菜主根腐烂,植株死亡(严重度4级和5级),春季无法返青。调查还发现,主根局部腐烂的油菜植株(严重度1~3级)仍然能够返青生长,并抽薹、现蕾、开花、形成角果及结籽。在这些植株的地上部器官(茎秆、角果)上没有发现*L. sclerotioides*侵染及危害的迹象。由此可见,*L. sclerotioides*可能仅危害油菜根部,不能危害油菜茎秆、枝条和角果。这一现象同*L. sclerotioides*感染苜蓿根并引起褐腐病的现象相似[4,5,8,12]。

本研究调查发现,油菜根溃疡病在陇西县发生最为严重,在武山县零星发生,而在甘谷县和秦州区没有发现油菜根溃疡病。这种分布格局说明,油菜根溃疡病在甘肃省的自然分布是不均匀的。这可能与*L. sclerotioides*存在于土壤,扩散慢有关系[10]。在甘肃省其他冬油菜种植区是否有这种病害发生需要进一步监测。有一点值得注意,油菜根溃疡病的发生具有隐蔽性。首先,发生部位隐蔽,该病发生在油菜地下主根上,肉眼不易观察;其次,发生时间隐蔽,该病发生在油菜越冬期,基层农技人员和农民自然将油菜越冬期死苗归结为低温冻害,而非侵染性病害。有必要在相关地区,向基层技术人员和农民普及油菜根溃疡病知识,以推动对这一油菜病害的监测工作。

本研究以及Shang等人[3]的研究结果均表明,油菜根溃疡病组织上常常存在*L. sclerotioides*菌核,而且从油菜病根组织中常常分离到*L. sclerotioides*。这些事实线索说明,*L. sclerotioides*可能是油菜根溃疡病的病原。然而,Shang等人2023年在武汉进行的人工接种试验表明,*L. sclerotioides*可以在油菜根围定殖,并产生菌核,但不能引起油菜主根腐烂[3]。造成这种结果的可能原因有二:其一,武汉冬季气温(3℃~12℃)较陇西县(-8℃~1℃)高得多,较高的气温可能不利于*L. sclerotioides*侵染。前人研究表明,*L. sclerotioides*是一种嗜冷真菌[7,13],自然分布在冬季寒冷的地区,包括加拿大[5,6,14]、美国[4,8,12]、芬兰[13]和澳大利亚[14]等国家。冬季持续低温(甚至长期冰雪覆盖)才能诱导其侵染苜蓿根组织,从而引起苜蓿根褐腐病[4,5,7,9]。Shang的研究表明,*L. sclerotioides* P9和P10(均来源于油菜)的最适生长温度是12℃~20℃,最高温度是28℃,在4℃下的生长速率是1.2 mm/d,仅较最适温度下的生长速率(2.1 mm/d)下降43%[3]。这一研究结果说明,油菜来源的*L. sclerotioides*也具有嗜冷特性,这可能是其在冬季侵染油菜,引起根溃疡病的生物学基础。其二,武汉接种试验采用的油菜品种是甘蓝型,而非白菜型[3],甘蓝型油菜可能较白菜型油菜更抗病。从技术角度看,要澄清*L. sclerotioides*是否是油菜根溃疡病的病原问题,需要在陇西县当地开展*L. sclerotioides*人工接

种试验。

如上所述,低温是诱发油菜根溃疡病和苜蓿根褐腐病的重要因素[4,5,8,12]。可能的机制包括两个方面:其一,低温可能打破*L. sclerotioides*菌核休眠,促使其萌发产生菌丝或分生孢子,由此产生侵染油菜或苜蓿根组织的接种体。Shang等2023年曾尝试在20℃下诱导*L. sclerotioides*菌核萌发[3],但未获成功,说明20℃条件难以打破*L. sclerotioides*菌核休眠。由此推测低温(如0℃左右)可能对*L. sclerotioides*菌核萌发产生刺激作用;其二,低温(特别是持续低温)可能会削弱油菜和苜蓿主根的抗病性,或者在主根上造成冻伤,从而有利于*L. sclerotioides*侵染油菜。有必要开展进一步室内研究,以明确温度对*L. sclerotioides*菌核萌发及其对油菜主根侵染的影响。

前人研究表明,*L. sclerotioides*是苜蓿根褐腐病的病原[4-8,14]。同时,这种真菌还可危害禾本科作物,如小麦,引起根腐病[11,14]。本研究在陇西县来源的苜蓿根和小麦根样品中分离到*L. sclerotioides*,据作者所知,目前未见关于*L. sclerotioides*在我国苜蓿和小麦上发生的报道,也还不明确这种真菌对苜蓿和小麦的危害损失,需要进一步监测。

参考文献:

[1] 冯海棠,王汉中. 新形势下的我国食用植物油供给安全对策[J]. 中国油料作物学报, 2024,46(2):221-227. DOI: 10.19802/j.issn.1007-9084.2024021.

[2] 李永红,李建厂,任军荣,等. 我国西北地区油菜茎象甲的消长与防治策略[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(4): 509 - 512. CNKI: 1007-9084(2009)04-0509-04.=-509.

[3] Shang M X, Lyv X, Zhang J, et al. First report of *Leptosphaeria sclerotioides* on *Brassica napus* in Northwestern China[J]. Oil Crop Sci, 2023, 8(2): 73-80. DOI: 10.1016/j.ocsci.2023.02.001.

[4] Larsen J E, Hollingsworth C R, Flor J, et al. Distribution of *Phoma sclerotioides* on alfalfa and winter wheat crops in the north central United States[J]. Plant Dis, 2007, 91(5): 551-558. DOI: 10.1094/PDIS-91-5-0551.

[5] Gray F A, Hollingsworth C R, Reedy C J, et al. Pathogenicity of 14 isolates of *Phoma sclerotioides*, causing brown root rot of alfalfa[J]. Can J Plant Pathol, 2008, 30(2): 285-293. DOI:10.1080/07060661.2008.10540544.

[6] Davidson J G N. Brown root rot[M]//Stuteville D L, Erwin D C (eds). Compendium of alfalfa diseases (ISBN: 0-89054-108-6. St. Paul MN: American Phytopathological Society, 1990: 29-31.

[7] Yang W, Jing X Y, Guan Y P, et al. Response of fungal communities and co-occurrence network patterns to compost amendment in black soil of Northeast China[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1562. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01562.

[8] Larsen R C, Hollingsworth C R, Vandemark G J, et al. A rapid method using PCR-based SCAR markers for the detection and identification of *Phoma sclerotioides*: the cause of brown root rot disease of alfalfa[J]. Plant Dis, 2002, 86(9): 928-932. DOI:10.1094/pdis.2002.86.9.928.

[9] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]//PCR Protocols. Amsterdam: Elsevier, 1990: 315-322. DOI: 10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1.

[10] Salonen A. *Plenodomus meliloti* dearness & Sanford found in Finnish lappland[J]. AFSci, 1962, 34(1): 169-172. DOI:10.23986/afsci.71580.

[11] Harris J R. The association of *Phoma sclerotioides* with root diseases of cereals, legumes and weeds[J]. Australas Plant Pathol, 1986, 15(1): 14-17. DOI: 10.1071/APP9860014.

[12] Hollingsworth C R, Gray F A. First report of brown root rot on alfalfa caused by *Phoma sclerotioides* in the continental United States[J]. Plant Dis, 1999, 83(11): 1071. DOI:10.1094/PDIS.1999.83.11.1071A.

[13] Wang M, Jiang X, Wu W, et al. Psychrophilic fungi from the world's roof[J]. Persoonia, 2015, 34: 100-112. DOI:10.3767/003158515X685878.

[14] Gaudet D A, Bhalla M K. Survey for snow mold diseases of winter cereals in central and northern Alberta, 1983-87[J]. Can Plant Dis Surv, 1988, 68: 15 - 22.

(责任编辑:郭学兰)