



# 镰孢菌引发的大豆根腐病及其生物防治研究进展

姜超, 董禹含, 孟利强, 王向向, 刘治廷, 陈静宇, 樊川, 曹旭

(黑龙江省科学院 微生物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150010)

**摘要:**大豆是我国主要粮食和经济作物之一,但其产量和品质极易受病害影响。大豆根腐病是世界范围内较为常见的大豆病害类型。镰孢菌(*Fusarium*)是大豆根腐病的主要致病菌之一。本文综述了由镰孢菌引发的大豆根腐病的发生条件、发病症状及病害影响,并分析了镰孢菌引发大豆根腐病的致病性与发病机理。通过尖孢镰孢菌(*F. oxysporum*)和禾谷镰孢菌(*F. graminearum*)的致病性研究发现,镰孢菌属菌株可以通过破坏宿主植物免疫应答系统或分泌真菌毒素破坏植物细胞等方式引发大豆根腐病。同时不同病原菌之间还存在协同互作机制,可通过分泌促侵染关键物质协同逃脱宿主植物防御。本文总结了镰孢菌引发的大豆根腐病的生物防治研究进展。生物防治手段集合多个作用靶点于一体,通过转录组学技术能够揭示生物防治的作用机理,而生防微生物固有的活体属性所带来的应用局限性则可通过与农业田间管理、化学防治相结合等方式加以攻破。本文还对关于大豆根腐病乃至各类农业生产病害的生物防治未来研究方向进行了展望。

**关键词:**大豆根腐病;镰孢菌;致病性;致病机理;生物防治

## Research Progress on Soybean Root Rot Caused by *Fusarium* and its Biological Control

JIANG Chao, DONG Yuhan, MENG Liqiang, WANG Xiangxiang, LIU Zhiting, CHEN Jingyu, FAN Chuan, CAO Xu

(Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150010, China)

**Abstract:** Soybean is one of the main food and cash crops in China, but its yield and quality are easily affected by diseases. Soybean root rot is a common soybean disease type in the world. *Fusarium* is one of the main pathogens of soybean root rot. This paper summarizes the occurrence conditions, symptoms and disease effects of soybean root rot caused by *Fusarium*. The pathogenicity and pathogenesis of soybean root rot caused by *Fusarium* were also analyzed. Through the pathogenicity study of *F. oxysporum* and *F. graminearum*, it can be found that *Fusarium* strains can cause soybean root rot by destroying the host plant immune response system or secreting mycotoxins to destroy plant cells. At the same time, there is a synergistic interaction mechanism between different pathogens, which can escape the host plant defense by secreting key substances that promote infection. This paper analyzes the research progress of biological control of soybean root rot caused by *Fusarium*. Biological control measures integrate multiple action targets. The mechanism of biological control can be revealed by transcriptomics technology. However, the application limitations brought by the inherent living properties of biological control microorganisms can be broken through the combination of agricultural field management and chemical control. Finally, the future research direction of biological control of soybean root rot and even various agricultural production diseases was prospected.

**Keywords:** soybean root rot; *Fusarium*; pathogenicity; pathogenesis; biotic-control

大豆是一种重要的粮食和经济作物,含有丰富的油脂<sup>[1]</sup>,也是人类生产生活中重要的蛋白质供给作物<sup>[2]</sup>。大豆全球产量总计 3.7 亿 t 左右,高产国家包括美国、巴西、阿根廷、中国及印度等<sup>[3]</sup>。然而,大豆在种植及生长过程中易受到各类病害侵袭,不仅严重影响大豆产量与品质,同时对农业生产安全构成巨大威胁。大豆根腐病是大豆种植过程中的一种常见病害,是 2023 年农业农村部《一类农作物病虫害名录》中的主要病害类型之一,发病症状主要集中在大豆的根部和地下茎,常出现根部

腐烂、根系生长受阻等典型症状。可由多种真菌和细菌感染引起,具有高传染性、快速蔓延、可防控但治疗难度大等特点。2023 年 11 月,国家农作物品种审定委员会发布《国家级大豆品种审定标准(2023 年修订)》,标准中明确规定,在田间自然发病情况下,大豆品种抗病性必须满足对大豆根腐病、大豆花叶病毒病、大豆灰斑病及大豆炭疽病 4 种病害的抗性级别达到中感及以上,否则将不符合国家级大豆品种审定标准要求。大豆根腐病可发生在大豆的整个发育时期,以苗期发病最为严重,被感

收稿日期:2024-06-13

基金项目:黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(CZBZ202206001)。

第一作者:姜超(1989—),女,硕士,研究实习员,主要从事微生物肥料与生物防治研究。E-mail:782288910@qq.com。

通讯作者:曹旭(1988—),女,硕士,副研究员,主要从事农业微生物研究。E-mail:273325760@qq.com。

染的幼苗会出现生长速度缓慢,根系发育迟缓,侧根及须根数量明显减少,子叶颜色偏淡等症状<sup>[4]</sup>。发病初期,大豆根茎部先形成微小病斑块,随着时间推移病斑范围逐渐扩大且颜色加深,形成褐色长条形或卵圆形病斑,围绕主根和侧根形成大面积斑块,最终引起植株根部黑化腐烂,严重阻碍大豆根系的水分与营养吸收,最终造成大豆减产甚至绝产<sup>[5]</sup>。

大豆根腐病的致病菌包括多种类型,侵染方式包括单独侵染和复合侵染,目前已经报道的致病菌主要包括镰孢菌(*Fusarium*)、疫霉菌(*Phytophthora*)、腐霉菌(*Pythium*)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia*)。其中,镰孢菌是引起大豆根腐病发生的一种主要病原菌类型<sup>[6]</sup>,是一类具有强烈寄生和腐生能力的兼性寄生真菌,为典型的土传病害致病菌。由镰孢菌引发的大豆根腐病不仅引起大豆种子、幼苗、茎及根腐烂发病,也能引发世界范围内农业、园艺、观赏作物等广泛经济损失<sup>[7]</sup>。同时,镰孢菌能通过产生真菌毒素等次级代谢产物污染农产品,导致食物及饲料产品品质受损,对人类和动物健康产生负面影响<sup>[8]</sup>。目前关于大豆根腐病主流防治手段主要包括农业生产管理、抗性品种选育、化学防治等,但这些防治手段均存在一定的局限性。例如抗性品种随着致病菌变异易出现抗性丧失;化学防治在一定程度上会对生态环境及粮食安全构成威胁。生物防治作为近年来新兴的一种防治手段具有环境友好及可持续发展等优点,目前成为国内外各类病害防治的研究热点,能够为农业生产提供一条新型、绿色、安全的农业治理路径,具备巨大开发潜力和市场应用前景。

本文以由镰孢菌引发的大豆根腐病为主要综述对象,分析镰孢菌的传播途径、发病症状以及致病性决定因素,以镰孢菌属中常见致病菌种为例论述其致病机理和发病机制,以获得大豆根腐病防治的精准靶点,分析近年来生物防治治理大豆根腐病的研究进展情况。研究旨在为大豆根腐病防治提供新的思路和方法,为大豆病害综合防治、稳定大豆产能、提升大豆品质提供指导和帮助。

## 1 镰孢菌致病性

镰孢菌可侵染任何生长时期的大豆植株,引起大豆根腐病、立枯病、枯萎病或植株猝死<sup>[9]</sup>,可通过降低大豆发芽率来降低大豆种子质量和活力<sup>[10]</sup>,一般可在发病的大豆种子和豆荚中分离获得。镰孢菌能产生具备高抗逆性的厚垣孢子<sup>[11]</sup>,在大豆收割完成后继续残留在植物体和土壤中,次年随大豆种子播种在土壤中萌发扩增,侵害大豆幼苗<sup>[12]</sup>。镰孢菌可以通过主根部伤口、气孔、次生根伤口以及分

解破坏根部组织细胞壁等方式侵入大豆植株。一般在种子带病、播种过深或过早、重茬粗放耕作等情况下,镰孢菌侵染、繁殖,引起大规模根腐病发病的几率更大。

镰孢菌的致病性由多种因素决定,包括信号转导因子、代谢酶及细胞壁降解酶等<sup>[13]</sup>。一是与产生真菌毒素有关。许多镰孢菌属的菌种具备产生真菌毒素的能力,例如对植物具有毒性作用的单端孢菌毒素(Trichothecenes)。Perincherry 等<sup>[14]</sup>证实这些真菌毒素有助于菌株发挥致病作用。二是与致病基因分布位置有关。部分镰孢菌的致病性相关基因可能位于附属染色体(Accessory chromosomes)上,其致病性基因可在菌株间水平转移。Liu 等<sup>[15]</sup>从我国黑龙江省地区 6 个不同积温带地区采集 200 余份大豆根部样品中分离获得了 485 株镰孢菌属菌株,鉴定为 9 个种,大豆盆栽实验显示这些不同种的镰孢菌可在不同程度上感染大豆植株并影响植物生物量,其中尖孢镰孢菌的致病程度最高,经 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)技术分析病原体毒性、进化程度及种群遗传变异,发现 6 个不同积温带的尖孢镰孢菌种群内存在显著的遗传同质性,并且不同积温带的相同物种具有相似的致病性。Li 等<sup>[16]</sup>也发现从同一地点获得的不同镰孢菌菌株可能共享致病因子,并对植物产生类似的致病效果<sup>[17]</sup>。但还有一部分从田间发病大豆植株中分离获得的镰孢菌在诱导发病方面存在显著差异,对宿主植株的致病性不同,所引起的发病程度也不同<sup>[18]</sup>,致病程度的变化范围可从高侵袭性到非致病性<sup>[19]</sup>。在基于 Koch 假设的鉴定真菌性植物病原体致病性测试指南<sup>[20]</sup>中提出应使用科学的方法评价真菌病害对植物的致病程度,以此作为准确鉴定物种的重要分子依据。三是与环境因素变化有关。镰孢菌的致病性受其所处环境条件的影响,有研究表明实验室条件下的菌株致病性易受培养环境影响。寄主受体环境也是影响镰孢菌分布的关键因素,大豆在生长期间的积温、相对湿度、降水量、日照时间、土壤表面温度等气候参数均显著影响着镰孢菌的分布及根腐病发病率。其中,在温暖潮湿地区、高湿度环境下,镰孢菌侵染大豆情况会随着降雨量和相对湿度的增加而增加<sup>[21]</sup>。因此,实验室条件下对镰孢菌致病性的评价只能用于初步研究判定,应进一步结合温室或田间试验进一步验证<sup>[22]</sup>。

根据关于镰孢菌属中各分离菌株致病性的诸多研究总结发现,尖孢镰孢菌(*F. oxysporum*)相比于其他菌株所表现出的致病性更强。Olszak 等<sup>[23]</sup>从波兰东南部大豆试验田的典型根腐病发病植株中分离获得了 19 株镰孢菌,其中包括 8 株尖孢镰孢菌(*F. oxysporum*)、6 株禾谷镰孢菌(*F. graminearum*)、4 株黄色镰孢菌(*F. culmorum*)和 1 株芬芳镰孢菌(*F.*



*redolens*) ,选用3个品系 (Abelina、Atlanta 和 Mavka) 健康大豆种子进行真菌致病性试验,发现不同分离株引发的中位发病面积占比在 5.0% ~ 88.0% 之间变化不等,其中尖孢镰孢菌致病性相比于其他种更高。Arias 等<sup>[24]</sup> 比较了从生长在美国爱荷华州的大豆根部获得的 14 个镰孢菌属的病原菌分离物的致病性,各组病原菌对大豆的生长均有不同程度的不利影响,其中只有一株尖孢镰孢菌的致病性表现明显,其致根腐病严重程度与未接种的对照组相比差异显著。Ellis 等<sup>[25]</sup> 从大豆根和幼苗中收集并表征了 100 多个存在遗传多样性的尖孢镰孢菌菌株,将致病性按照高、中、低程度划分,其中高致病性的尖孢镰孢菌分离株可诱导大豆幼苗出现明显的枯萎病、立枯病和根腐病症状。因此,鉴于尖孢镰孢菌致病性强,发病效果明显的特点,可以作为研究根腐病发生机制与传播途径的优选病原菌株。

2 镰孢菌致病机理

目前报道的镰孢菌属的主要致病菌有尖孢镰孢菌 (*F. oxysporum*)、禾谷镰孢菌 (*F. graminearum*)、腐皮镰孢菌 (*F. solani*)、燕麦镰孢菌 (*F. avenaceum*) 等,其中尖孢镰孢菌为优势菌种。美国地区,镰孢菌致根腐病的菌种类型以尖孢镰孢菌与腐皮镰孢菌为主;加拿大地区以禾谷镰孢菌与尖孢镰孢菌为主<sup>[26]</sup>;我国以尖孢镰孢菌、禾谷镰孢菌及腐皮镰孢菌为主,其中东北三省<sup>[27]</sup>、新疆地区<sup>[28]</sup>、福建地区<sup>[29]</sup>均以尖孢镰孢菌为优势致病菌种。

尖孢镰孢菌 (*F. oxysporum*) 不仅侵染大豆引发大豆根腐病,同时也侵染其他多种植物类型包括棉花<sup>[30]</sup>、番茄<sup>[31]</sup>、香蕉<sup>[32]</sup> 等多达百余种以上,是十大植物病原真菌之一<sup>[33]</sup>。尖孢镰孢菌可以产生分生孢子和厚垣孢子,分生孢子具有游动性,可在土壤中游走,在接触宿主根系后侵入宿主体内并定殖;厚垣孢子则可长年累月地存活于土壤之中,待有适合的宿主寄生环境时发动侵染并引起宿主发病。尖孢镰孢菌侵染大豆能引起一系列病症,包括大豆植株猝倒、皮层腐烂、脉管变色等。关于尖孢镰孢菌的侵染机制主要包括两种,一是尖孢镰孢菌能够耐受或破坏寄主植物在应答免疫反应中产生的多种防御物质,逃脱寄主对其产生的攻击和防御作用<sup>[34]</sup>。二是尖孢镰孢菌能分泌一系列与植物细胞壁成分相关的酶类,包括内切多聚半乳糖醛酸酶 (endo PGs)<sup>[35]</sup>、外切  $\alpha$ -1, 4-半乳糖醛酸酶 (exo PGs)<sup>[36]</sup>、果胶裂解酶 (PL)、木聚糖酶 (XYL)<sup>[37]</sup> 等,通过酶解破坏作物的防御和保护组织,这些酶类统称为植物细胞壁降解酶 (Cell Wall Degrading Enzymes, CWDEs)。有研究发现,通过敲除此类酶的合成相关基因可造成多种 CWDEs 表达受到抑

制,使尖孢镰孢菌侵染能力明显降低<sup>[38]</sup>。

禾谷镰孢菌 (*F. graminearum*) 是镰孢菌属的另一常见致病菌株,于 1986 年在美国首次报道引发大豆根腐病。禾谷镰孢菌还能引起大豆苗期枯萎病、豆荚腐病以及小麦、玉米茎基腐病、赤霉病、穗腐病<sup>[39]</sup>。其代谢产物与致病性息息相关,例如禾谷镰孢菌能代谢产生单端孢霉烯真菌毒素 (Trichothecene mycotoxins),该毒素能显著降低种子萌发率<sup>[40]</sup>。由于禾谷镰孢菌对大豆种子和幼苗具有高度侵袭性,感染禾谷镰孢菌后的大豆种子出苗率严重降低,引起大豆植株发育异常<sup>[41]</sup>。据报道,美洲大陆的多个国家都曾出现因禾谷镰孢菌感染导致的大豆出苗前和出苗后的猝倒情况<sup>[42]</sup>。禾谷镰孢菌也能引起大豆根部及幼苗发病,症状包括根部和幼芽上出现细长损伤组织,损伤部位最初表现为浅棕色,逐渐加深至局部坏死,最终造成大豆植物枯萎和死亡<sup>[43]</sup>。禾谷镰孢菌对禾本科植物的感染能力较强。Zhang 等<sup>[44]</sup> 和 Barros 等<sup>[45]</sup> 研究发现温室条件下,镰孢菌属中禾谷镰孢菌菌株引发的根腐病病症较为严重。不同的禾谷镰孢菌株在致病性方面存在差异,自 2007 年禾谷镰孢菌基因组发布起,已经有 60 余种禾谷镰孢菌基因组数据在真菌转录因子数据库上发布,可通过对已发布的禾谷镰孢菌株基因组数据进行宏观比对揭示种间差异。此外,在对禾谷镰孢菌致病机理相关研究中发现,可以通过基因在转录和翻译过程中表达水平的变化反应其引起疾病发生的规律。Naeem 等<sup>[46]</sup> 在大豆上接种禾谷镰孢菌后进行 RNA-seq 分析,确定共有 2 313 个差异表达基因 (DEGS),在 3 个不同时间点,约有 128 个差异基因表达,对差异基因进行功能性分析和生物信息学分析发现禾谷镰孢菌的 ROS 清除、真菌毒素的生物合成、有性生殖以及其致病性与其碳代谢、过氧化物酶与核糖体途径密切相关,受差异性基因表达的影响。

此外,大豆根腐病的发生原因复杂多样,可同时由多种病原体如镰孢菌、疫霉菌、腐霉菌等以不同的机制复合侵染大豆根部造成。关于病原体-病原体间的互作关系可以划分为 3 种类型,分别是拮抗作用,即一种病原体抑制另一种病原体<sup>[47]</sup>;共生作用,即两种病原体存在于同一宿主中,但不发生相互作用<sup>[48]</sup>;协同作用,即两种病原体都受益于相互作用并共同加强疾病的严重程度。病原菌之间的互作关系可以通过构建多病原体-宿主侵染模型进行分析。Wang 等<sup>[49]</sup> 在 336 个镰孢菌-疫霉菌-大豆实验组中发现有 82.1% 出现病害加重问题,经非靶向代谢组分析发现,VB6 (维生素 B6) 是镰孢菌促侵染的关键物质,而镰孢菌中存在的一段保守序列 (锌醇脱氢酶编码基因 *Fpp1*) 能调控 VB6 合成通路中两个关键基因 (*PdxS* 和 *PdxT*),说明镰孢菌能通

过调控 VB6 帮助大豆疫霉逃避寄主抗性,促进大豆疫霉侵染及在大豆组织中定殖。这是一种从双病原体与寄主间三者互作角度揭示作物对病菌抗性丧失的新机制,证明病原体间协同互作效应普遍存在,对于实际生产应用具备一定的指导意义,在使用防控剂治理大豆根腐病时应兼顾大豆疫霉与镰孢菌双重病原,进行复合配药,综合治理,以防出现“水桶效应”。关于不同病菌之间的互作关系与机制研究的前沿进展将有助于更为准确、有效地解决大豆协同抗病中的各类关键技术问题。

### 3 生物防治研究进展

生物防治是一种利用生物之间的相互作用关系抑制或消灭有害生物的方法,主要依赖于一种或者一类生物来抑制另一种或另一类生物。生物防治的措施多种多样,包括“以虫治虫”、“以菌治虫”、“以病毒治虫”、“以激素治虫”及“以菌治菌”等方式。其中“以菌治菌”是指利用某些生防微生物治理因病原菌侵袭造成的植物病害,其作用原理包括产生拮抗物质、营养竞争、空间竞争、诱导植物抗性、促进作物生长等<sup>[50]</sup>。生物防治过程具有环保、经济、绿色、可持续等优点,是现代农业和生态保护中不可或缺的一部分。

现应用的生防微生物类型主要有细菌、放线菌和真菌<sup>[51]</sup>,其中生防细菌种类繁多,具备极强的繁殖和生存能力,其快速繁殖的特性使其在生物防治中能快速占据营养和生态位,成为优势菌群,减少病原菌定殖,降低病原菌侵入植物组织几率<sup>[52]</sup>;生防放线菌是农用抗生素的主要生产菌,同时可产生多种具有抑菌活性的次级代谢产物,能对多种病原菌同时发挥广谱抑菌作用,具有在各种逆境胁迫下提高植物系统抗逆性的能力<sup>[53]</sup>;生防真菌属于真核生物,其生物合成和代谢方式具有更高的复杂性和多样性,能产生多种类型生物活性物质,包括抑菌素、抗菌酶等,同时一些生防真菌能够诱导植物产生系统抗性,在植物自身受到病原菌侵染时强化其防御能力,启动对病原真菌的抗性功能<sup>[54]</sup>。

生防微生物对大豆根腐病的防治作用机理集成了多个作用靶点,是一个复杂的抗菌过程,包括破坏菌丝细胞结构、影响细胞碳代谢、氮代谢及活性氧清除机制,削弱毒力运转、降低侵染所必须的胞壁降解酶分泌等。王芳等<sup>[55]</sup>以禾谷镰孢菌作为研究对象,从健康大豆根际土壤中分离获得 4 株芽孢杆菌和 1 株假单胞菌,对禾谷镰孢菌抑制率达到 60% 以上,测定代谢产物发现,5 株拮抗细菌均具有产蛋白酶、纤维素酶、葡聚糖酶的活性,发酵上清液还能破坏病原菌菌丝体结构,抑制其孢子萌发,这是一种通过分泌真菌细胞壁降解酶而破坏细胞结

构的拮抗作用机制。生防微生物破坏病原菌菌丝体的过程可以通过扫描电镜观察,可以发现病原菌菌丝受到各种降解酶作用后出现扭曲变形,菌丝表面粗糙不平,发生褶皱、凹陷、干瘪等现象,逐渐裂解释放菌丝内容物质。从洋葱<sup>[56]</sup>、枸杞<sup>[57]</sup>根腐病病区分离获得拮抗细菌也发现了类似的拮抗作用效果。生防微生物除了具有抗病原真菌活性,还能通过提供必须的营养素和改善根际环境,发挥植物促生功能。Shahzad 等<sup>[58]</sup>发现用解淀粉芽孢杆菌 RWL1 处理被尖孢镰孢菌侵染的番茄植株时,患病植株可通过调节防御激素如水杨酸等含量,以及增加天冬氨酸、谷氨酸等氨基酸水平在一定程度上补救被侵染植株的生长状态。通过解磷、解钾、固氮、分泌铁载体<sup>[59]</sup>等方式将土壤中高分子有机物分解成植物可以消化吸收的小分子状态,提高植物对根际营养的吸收和利用,促进根系发育,增加植物生物量,维护植物整体健康。

近年来在生物防治机理研究中,转录组测序技术的应用越来越广泛,该技术能够全面快速获取病原微生物在特定状态下的所有转录本序列信息和表达信息。通过挖掘差异表达基因,在 GO 聚类 and KEGG 富集分析中可以揭示各种上调基因与下调基因分别调控何种功能变化,明确具体响应拮抗作用机制的关键候选基因,构建关键候选基因缺失突变体则能找到生防微生物抑制特定侵染途径的抑菌靶点,从而确定生防菌对病原真菌发挥拮抗作用的分子响应机制<sup>[60]</sup>,目前已成为一种常用的生物防治机理研究手段。Han 等<sup>[61]</sup>从大豆根际土壤中分离到一株对尖孢镰孢菌的抑制率可达到 80% 以上的枯草芽孢杆菌 HSY21。用菌株 HSY21 处理尖孢镰孢,经过 RNA-seq 分析发现有 1 445 个下调基因和 1 561 个上调基因。其中,涉及菌丝生长、代谢调节和疾病相关酶的基因大多下调,说明菌丝生长状态受到了抑制,同时经 HSY21 处理后,尖孢镰孢菌中纤维素酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、 $\alpha$ -淀粉酶和果胶-甲基-半乳糖醛酸酶的活性以及草酸和麦角甾醇的含量均显著降低,表明枯草芽孢杆菌 HSY21 既能抑制尖孢镰孢菌致病基因的表达,又能控制尖孢镰孢菌的生长发育。

目前,生物防治与病原菌快速检测联合成为病害治理的常用手段,病原菌快速检测有助于在病害感染初期进行早期预警和快速响应,抢抓生物防治黄金时期,快速制定应对策略,实施精准防控。传统的植物病原菌的检测现阶段仍以常规 PCR 或实时定量 PCR 为主,但此两种方法需要配备大型检测仪器,检测过程耗时较长,并不适用于一些有“即取即检”要求的特定应用场景。宋文静等<sup>[62]</sup>应用等温扩增的 RPA 技术,根据大豆尖孢镰孢菌的 3 个特异基因分别设计正反引物,两两组合筛选获得最佳引



物对,检测下限可达  $90\text{ fg} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ,反应时间仅需  $15\sim 20\text{ min}$ ,具有灵敏、快速等优点,为大豆根腐病致病菌现场化快速检测提供了便捷的方法。为了进一步提升多效检测方法,可以根据多个保守基因序列设计靶标,实现多重检测。 $\text{rDNA-ITS}^{[63]}$  ( $\text{rDNA-ITS}$  序列)、 $\text{EF-1}\alpha$  (翻译延伸因子) $^{[64]}$ 、 $\text{rRNA-IGS}$  (核糖体 RNA 间隔区) $^{[65]}$ 、RNA 聚合酶亚基基因  $\text{RPB1}$ 、 $\text{RPB2}^{[66]}$  常用来作为病原菌分子鉴定和检测的靶标基因。目前以保守基因为靶标的 PCR 鉴定技术能够实现快速、准确地获得鉴定结果,并且不受细菌、线虫及其他非致病真菌的干扰 $^{[67]}$ 。代玥等 $^{[68]}$ 针对镰孢菌翻译延伸因子基因设计了特异性引物,建立了 4 种镰孢菌多重 PCR 检测体系,此多重检测体系能够在一个反应中同时检测尖孢镰孢菌、禾谷镰孢菌等多种镰孢菌属致病菌,实现了对大豆根腐病多病原菌复合侵染发病的早期快速诊断。

然而,生物防治也存在一定的局限性。生防微生物具备活体属性,环境因素如温度、湿度、土壤类型、作物生长周期、耕种方式等条件变化均会对防治效果产生影响。如果能将生物防治与抗性品种选育、农业田间管理、化学防治相结合,发挥各种防治手段的优势,则有望获得事半功倍的防治效果。例如在配合科学农业耕作方面,可以充分利用大豆与谷类作物间作、套作的耕作模式。在我国西南地区,由于土地当量比和光热资源良好,大豆与谷类作物套作模式已经拥有了一定的推广规模,此类组合已经表现出了较高的间作产量,大豆蛋白含量也有所提高。Chang 等 $^{[69]}$ 对比玉米-大豆套作与大豆单作连作条件下大豆健康植株的根际土壤,采用微生物剖面、双重培养方法,研究不同种植模式下大豆根际细菌的多样性、群落结构及功能,发现间作改变了根际细菌群落,增加了微生物群落结构的多样性,有 9 种根际细菌对病原菌表现出良好的拮抗作用,证明玉米大豆套作能够帮助寄主抵抗土传病害发生,通过重塑根际细菌群落,能驱使更多有益微生物在大豆根际积累。生物防治与化学防治结合可以针对不同病害阶段、病害程度,灵活匹配用药方案,最大限度减少农药投入,降低农用化学品依赖,提高资源利用效率,实现科学农业治理。

4 展望

大豆在我国粮食生产中具有战略性地位,提升大豆自给率对于增强国家粮食安全的自主性和可控性具有重要意义,大豆病害防治工作是保障国家粮食安全战略的重要举措之一。生物防治前沿技术的开发正在迅速发展。本文综述了大豆根腐病主要致病菌镰孢菌的基础研究进展情况,包括发病

情况、致病性及生物防治进展等,侧重于机理机理分析,而对于大豆根腐病乃至农业生产中的各类病害的应用研究则具备更大的应用转化前景。未来生物防治在应用研究方面可重点加强与现代化智能农业技术相结合,促进基因工程技术与生物制造产业联合,攻克微生物菌剂稳定性问题,增强微生物菌剂的抗逆性和适应性;将智能制造技术与机械自动化相匹配,实现农业生产现场病原菌快速检测分析,精准识别病害;将物联网传感技术与智能灌溉相结合,实现农田环境数据实时监测以及生防菌剂的精准定量投放。以上均需要生物领域、农业领域、智能制造领域等多方联动,共同推进。此外,生物防治技术需要行业标准化、规范化建设,与农业、林业、园艺等多个领域相融合,形成完整的产业链条。生物防治技术最终推广到一线农业中还需加大对农业生产者的宣传与普及力度。生物防治基础研究与应用研究的有效协同,将全面推进农业绿色、安全、高效、可持续发展,促进国家“双减”任务的实施和目标完成。

参考文献

[1] PAGANO M C, MIRANSARI M. The importance of soybean production worldwide [M]//Abiotic and Biotic Stresses in Soybean Production. Amsterdam: Elsevier, 2016: 1-26.

[2] PENG D, JIANG R, PENG H, et al. Soybean cyst nematodes: A destructive threat to soybean production in China [J]. Phytopathology Research, 2021, 3: 19.

[3] CJAMG X L, YAN L, NAEEM M, et al. Maize/soybean relay strip intercropping reduces the occurrence of *Fusarium* root rot and changes the diversity of the pathogenic *Fusarium* species [J]. Pathogens, 2020, 9(3): 211.

[4] XU F, FENG C, LIU L, et al. First report of *Fusarium falciforme* causing root rot of soybean (*Glycine max* L.) in Henan, China [J]. Plant Disease, 2022, 107(7): 2244.

[5] KANG I J, LEE M, HAN S Y, et al. First report of soybean root rot caused by *Fusarium proliferatum* in the Republic of Korea [J]. Plant Disease, 2024; PDIS-12-23-2551-PDN.

[6] CRUZ D R, LEANDRO L F S, MUNKVOLD G P. Effects of temperature and pH on *Fusarium oxysporum* and soybean seedling disease [J]. Plant Disease, 2019, 103(12): 3234-3243.

[7] GEISER D M, AOKI T, BACON C W, et al. One fungus, one Name: Defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use [J]. Phytopathology, 2013, 103(5): 400-408.

[8] ANTONISSEN G, MARTEL A, PASMANS F, et al. The impact of *Fusarium mycotoxin* on human and animal host susceptibility to infectious diseases [J]. Toxins, 2014, 6(2): 430-452.

[9] ELLIS M L, BRODERS K D, PAUL P A, et al. Infection of soybean seed by *Fusarium graminearum* and effect of seed treatments on disease under controlled conditions [J]. Plant Disease, 2011, 95(4): 401-407.

[10] NAEEM M, LI H, YAN L, et al. Characterization and pathogenicity of *Fusarium* species associated with soybean pods in maize/soybean strip intercropping [J]. Pathogens, 2019, 8

- (4): 245.
- [11] LESLIE J F, SUMMERELL B A, BULLOCK S. The *Fusarium* laboratory manual[M]. Wiley-Blackwell, Hoboken, 2006.
  - [12] HARTMAN G L, RUPE J C, SIKORA E J, et al. Compendium of soybean diseases and pests [M]. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 2015: 56-59.
  - [13] ZHOU Q, LI N, CHANG K F, et al. Genetic diversity and aggressiveness of *Fusarium* species isolated from soybean in Alberta, Canada[J]. Crop Protection, 2018, 105: 49-58.
  - [14] PERINCHERRY L, LALAK-KAŃCZUGOWSKA J, STPIEŃŁ. *Fusarium*-produced mycotoxins in plant-pathogen interactions[J]. Toxins, 2019, 11(11): 664.
  - [15] LIU Y, WEI X, CHANG F, et al. Distribution and pathogenicity of *Fusarium* species associated with soybean root rot in Northeast China[J]. The Plant Pathology Journal, 2023, 39(6): 575-583.
  - [16] LI J, FOKKENS L, VAN DAM P, et al. Related mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium oxysporum* determine host range on cucurbits [J]. Molecular Plant Pathology, 2020, 21(6): 761-776.
  - [17] MA L J, VAN DER DOES H C, BORKOVICH K A, et al. Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*[J]. Nature, 2010, 464: 367-373.
  - [18] ZHANG C, LIU Z Y, YANG Y G, et al. Characterization of *Fusarium* species causing soybean root rot in Heilongjiang, China, and mechanism underlying the differences in sensitivity to DMI fungicides [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2024, 200: 105828.
  - [19] GORDON T R. *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome[J]. Annual Review of Phytopathology, 2017, 55: 23-39.
  - [20] BHUNJUN C S, PHILLIPS A J L, JAYAWARDENA R S, et al. Importance of molecular data to identify fungal plant pathogens and guidelines for pathogenicity testing based on Koch's postulates[J]. Pathogens, 2021, 10(9): 1096.
  - [21] ABBAS A, MUBEEN M, SOHAIL M A, et al. Root rot a silent alfalfa killer in China: Distribution, fungal, and oomycete pathogens, impact of climatic factors and its management [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 961794.
  - [22] HARTMAN G L, MCCORMICK S P, O'DONNELL K. Tric-hothecene-producing *Fusarium* species isolated from soybean roots in Ethiopia and Ghana and their pathogenicity on soybean[J]. Plant Disease, 2019, 103(8): 2070-2075.
  - [23] OLSZAK-PRZYBYŚH, KORBECKA-GLINKA G, PATKOWSKA E. Identification and pathogenicity of *Fusarium* isolated from soybean in Poland[J]. Pathogens, 2023, 12(9): 1162.
  - [24] DÍAZ ARIAS M M, LEANDRO L F, MUNKVOLD G P. Aggressiveness of *Fusarium* species and impact of root infection on growth and yield of soybeans [J]. Phytopathology, 2013, 103(8): 822-832.
  - [25] ELLIS M L, CRUZ JIMENEZ D R, LEANDRO L F, et al. Genotypic and phenotypic characterization of fungi in the *Fusarium oxysporum* species complex from soybean roots [J]. Phytopathology, 2014, 104(12): 1329-1339.
  - [26] PRESELLO D A, IGLESIAS J, BOTTA G, et al. Stability of maize resistance to the ear rots caused by *Fusarium graminearum* and *F. verticillioides* in Argentinian and Canadian environments[J]. Euphytica, 2006, 147(3): 403-407.
  - [27] 王晓艳, 文景芝. 东北三省大豆根腐镰孢菌种类及其致病力分析 [J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(4): 391-395.
  - (WANG X Y, WEN J Z. Species and pathogenicity of *Fusarium* causing soybean root rot in Northeast China[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(4): 391-395.)
  - [28] 白丽艳, 张全党, 李斌, 等. 新疆阿勒泰地区大豆镰刀菌根腐病原鉴定及致病性测定[J]. 新疆农业科学, 2009, 46(3): 543-548. (BAI L Y, ZHANG Q D, LI B, et al. Identification and pathogenicity determination of the pathogenic *Fusarium* of soybean root rot in the Altay region of Xinjiang [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2009, 46(3): 543-548.)
  - [29] 李本金, 陈庆河, 兰成忠, 等. 福建省大豆根腐病原菌的鉴定[J]. 福建农业学报, 2011, 26(5): 798-803. (LI B J, CHEN Q H, LAN C Z, et al. A identification and pathogenicity test of the pathogens causing soybean root rot in Fujian[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2011, 26(5): 798-803.)
  - [30] ZHU Y, ABDELRAHEEM A, LUJAN P, et al. Detection and characterization of *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) race 4 causing *Fusarium* wilt of cotton seedlings in new Mexico [J]. Plant Disease, 2021, 105(11): 3353-3367.
  - [31] ZHANG Z, LI J, ZHANG Z, et al. Tomato endophytic bacteria composition and mechanism of suppressiveness of wilt disease (*Fusarium oxysporum*) [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 731764.
  - [32] THANGAVELU R, EDWINRAJ E, GOPI M, et al. Development of PCR-based race-specific markers for differentiation of Indian *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, the causal agent of *Fusarium* wilt in banana [J]. Journal of Fungi, 2022, 8(1): 53.
  - [33] DEAN R, VAN KAN J A L, PRETORIUS Z A, et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(4): 414-430.
  - [34] OLIVAIN C, ALABOUVETTE C. Colonization of tomato root by a non-pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* [J]. The New Phytologist, 1997, 137(3): 481-494.
  - [35] DI P A, GARCIA-MACEIRA F I, HUERTAS-GONZÁLEZ M D, et al. Endopolygalacturonase PG1 in different formae speciales of *Fusarium oxysporum* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(5): 1967-1971.
  - [36] KING B C, WAXMAN K D, NENNI N V, et al. Arsenal of plant cell wall degrading enzymes reflects host preference among plant pathogenic fungi [J]. Biotechnology for Biofuels, 2011, 4: 4.
  - [37] RONCERO M I, DI PIETRO A, RUIZ-ROLDÁN M C, et al. Role of cell wall-degrading enzymes in pathogenicity of *Fusarium oxysporum* [J]. Revista Iberoamericana De Micología, 2000, 17(1): S47-S53.
  - [38] ISLAM K T, BOND J P, FAKHOURY A M. FvSNF1, the sucrose non-fermenting protein kinase gene of *Fusarium virguliforme*, is required for cell-wall-degrading enzymes expression and sudden death syndrome development in soybean [J]. Current Genetics, 2017, 63(4): 723-738.
  - [39] CHANG X, DAI H, WANG D, et al. Identification of *Fusarium* species associated with soybean root rot in Sichuan Province, China [J]. European Journal of Plant Pathology, 2018, 151(3): 563-577.
  - [40] ŻELECHOWSKI M, MOLCAN T, BILSKA K, et al. Patterns of diversity of *Fusarium* fungi contaminating soybean grains [J]. Toxins, 2021, 13(12): 884.
  - [41] BRODERS K D, LIPPS P E, PAUL P A, et al. Evaluation of *Fusarium graminearum* associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio [J]. Plant Disease, 2007, 91(9): 1155-

1160.

[42] CHIOTTA M L, ALANIZ ZANON M S, PALAZZINI J M, et al. Pathogenicity of *Fusarium graminearum* and *F. meridionale* on soybean pod blight and trichothecene accumulation [J]. Plant Pathology, 2016, 65(9): 1492-1497.

[43] LI Y P, YOU M P, KHAN T N, et al. First report of *Phoma herbarum* on field pea (*Pisum sativum*) in Australia [J]. Plant Disease, 2011, 95(12): 1590.

[44] ZHANG J X, XUE A G, COBER E R, et al. Prevalence, pathogenicity and cultivar resistance of *Fusarium* and *Rhizoctonia* species causing soybean root rot [J]. Canadian Journal of Plant Science, 2013, 93(2): 221-236.

[45] BARROS G G, ZANON M S A, CHIOTTA M L, et al. Pathogenicity of phylogenetic species in the *Fusarium graminearum* complex on soybean seedlings in Argentina [J]. European Journal of Plant Pathology, 2014, 138(2): 215-222.

[46] NAEEM M, MUNIR M, LI H, et al. Transcriptional responses of *Fusarium graminearum* interacted with soybean to cause root rot [J]. Journal of Fungi, 2021, 7(6): 422.

[47] ORTON E S, BROWN J K M. Reduction of growth and reproduction of the biotrophic fungus *Blumeria graminis* in the presence of a necrotrophic pathogen [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 742.

[48] WEST J S, BALESIDENT M H, ROUXEL T, et al. Colonization of winter oilseed rape tissues by A/Tox<sup>+</sup> and B/Tox<sup>0</sup> *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) in France and England [J]. Plant Pathology, 2002, 51(3): 311-321.

[49] WANG S, ZHANG X, ZHANG Z, et al. *Fusarium*-produced vitamin B6 promotes the evasion of soybean resistance by *Phytophthora sojae* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2023, 65(9): 2204-2217.

[50] YU C, CHEN H, ZHU L, et al. Profiling of antimicrobial metabolites synthesized by the endophytic and genetically amenable biocontrol strain *Bacillus velezensis* DMW1 [J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(2): e0003823.

[51] KIM J, ROY M, AHN S H, et al. Culturable endophytes associated with soybean seeds and their potential for suppressing seed-borne pathogens [J]. The Plant Pathology Journal, 2022, 38(4): 313-322.

[52] ZHAO L, XU Y, LAI X. Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Glycine max* L.) and plant growth-promoting properties [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2018, 49(2): 269-278.

[53] LU L, LIU N, FAN Z, et al. A novel PGPR strain, *Streptomyces lasalocidi* JCM 3373T, alleviates salt stress and shapes root architecture in soybean by secreting indole-3-carboxaldehyde [J]. Plant, Cell & Environment, 2024, 47(6): 1941-1956.

[54] GAO P, QI K, HAN Y, et al. Effect of *Trichoderma viride* on rhizosphere microbial communities and biocontrol of soybean root rot [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1204688.

[55] 王芳,于璐,齐泽铮,等.大豆镰刀菌根腐病拮抗菌的筛选及生防效果[J].生物技术通报,2024,40(7):216-225. (WANG F, YU L, QI Z Z, et al. Screening and biocontrol effect of antagonistic bacteria against soybean *Fusarium mycorrhizal* rot [J]. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(7): 216-225.)

[56] KARIM H, AZIS A A, JUMADI O. Antagonistic activity and characterization of indigenous soil isolates of bacteria and fungi against onion wilt incited by *Fusarium* sp. [J]. Archives of Microbiology, 2021, 204(1): 68.

[57] 朱杰,程亮,姚强,等.枸杞根腐致病菌及拮抗菌的分离鉴定[J].西北农业学报,2023,32(7):1120-1130. (ZHU J, CHENG L, YAO Q, et al. Isolation and identification of pathogenic fungi and antagonistic bacteria from *Lycium barbarum* Root rot [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2023, 32(7): 1120-1130.)

[58] SHAHZAD R, KHAN A L, BILAL S, et al. Plant growth-promoting endophytic bacteria versus pathogenic infections: An example of *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato [J]. PeerJ, 2017, 5: e3107.

[59] LIU Y, SHU X, CHEN L, et al. Plant commensal type VII secretion system causes iron leakage from roots to promote colonization [J]. Nature Microbiology, 2023, 8(8): 1434-1449.

[60] 韩松洋.尖孢镰刀菌响应大豆根腐病生防菌 HSY21 的转录组分析及 *FoxERG3* 基因的功能验证 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2022. (HAN S Y. Transcriptome analysis of *Fusarium oxysporum* responding to soybean root rot biocontrol strain HSY21 and functional verification of *FoxERG3* gene [D]. Harbin: Harbin Normal University, 2022.)

[61] HAN S, CHEN J, ZHAO Y, et al. *Bacillus subtilis* HSY21 can reduce soybean root rot and inhibit the expression of genes related to the pathogenicity of *Fusarium oxysporum* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2021, 178: 104916.

[62] 宋文静,董志涛,荣馨锐,等.基于 RPA 恒温扩增技术对大豆尖孢镰刀菌的快速检测 [J]. 中国植保导刊, 2024, 44(1): 9-15. (SONG W J, DONG Z T, RONG X R, et al. Rapid detection of *Fusarium oxysporum* on soybean using recombinase polymerase amplification [J]. China Plant Protection, 2024, 44(1): 9-15.)

[63] ROTH M G, OUDMAN K A, GRIFFIN A, et al. Diagnostic qPCR assay to detect *Fusarium brasiliense*, a causal agent of soybean sudden death syndrome and root rot of dry bean [J]. Plant Disease, 2020, 104(1): 246-254.

[64] CHITRAMPALAM P, ABRAHAM N, JR NELSON B D. A culture-independent PCR-based assay to detect the root rot pathogen *Fusarium solani* species complex 11 from soybean roots and soil [J]. Plant Disease, 2018, 102(2): 327-333.

[65] O'DONNELL K, WARD T J, ROBERT V A R G, et al. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: Current status and future directions [J]. Phytoparasitica, 2015, 43(5): 583-595.

[66] SCHOCH C L, SEIFERT K A, HUHNDRORF S, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(16): 6241-6246.

[67] WANG J, SANG H, JACOBS J L, et al. Soybean sudden death syndrome causal agent *Fusarium brasiliense* present in Michigan [J]. Plant Disease, 2019, 103(6): 1234-1243.

[68] 代玥,闫伟棋,姜雪,等.多重 PCR 技术检测 4 种大豆镰孢菌根腐病病原 [J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(2): 307-313. (DAI Y, YAN W Q, JIANG X, et al. Establishment of a multiplex PCR for detection of four *Fusarium* pathogens of soybean root rot disease [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2021, 43(2): 307-313.)

[69] CHANG X, WEI D, ZENG Y, et al. Maize-soybean relay strip intercropping reshapes the rhizosphere bacterial community and recruits beneficial bacteria to suppress *Fusarium* root rot of soybean [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1009689.