

大豆土传病害生防菌及其应用研究进展

陈雪¹, 莫芹^{2,3§}, 陈一帆^{2,3}, 李丹⁴, 沈渊⁵, 章寅^{2,3*}, 吕贝贝^{2,3*}

(1. 上海师范大学生命科学学院, 上海, 201400; 2. 上海市农业科学院生物技术研究所, 上海, 201106;
3. 上海市农业遗传育种重点实验室, 上海, 201106; 4. 上海市奉贤区农业技术推广中心, 上海, 201400;
5. 金山区农业技术推广中心, 上海, 201599)

摘要:大豆土传病害是造成其质量和产量严重损失的主要原因之一。目前,生产上大豆病害的防治主要依赖杀菌剂等化学药剂的使用,这带来了水土污染、食品安全风险、杀菌剂抗药性等问题,因此寻找经济有效的绿色防治方法迫在眉睫。利用生防菌防治大豆病害的生物防治方法在安全性、有效性、持续性等方面优势突出,是近几年生物农药和生防菌剂研究的重点。本文针对大豆生产上的极难防治的四种土传病害(大豆根腐病、菌核病、炭腐病和胞囊线虫病),综述相应生防菌的生防潜力、生防机理和应用现状,并对应用中存在的问题和研发方向进行了展望,为大豆土传病害的综合防治提供参考,以期推动大豆产业的可持续发展。

关键词:大豆;土传病害;生防菌;生防机理;生防菌应用

中图分类号:S476.9

文献标识码:A

文章编号:1007-9084(2023)05-1082-13

Research progress on biocontrol bacteria for soybean soil-borne diseases and its application

CHEN Xue¹, MO Qin^{2,3§}, CHEN Yi-fan^{2,3}, LI Dan⁴, SHEN Yuan⁵, ZHANG Yin^{2,3*}, LYU Bei-bei^{2,3*}

(1. Shanghai Normal University, Shanghai 201400, China; 2. Biotechnology Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China; 3. Shanghai Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding, Shanghai 201106, China; 4. Shanghai Fengxian District Agricultural Technology Promotion Center, Shanghai 201400, China; 5. Jinshan District Agricultural Technology Promotion Center, Shanghai 201599, China)

Abstract: Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] is one of the most economically valuable food crops and oil crops in the world, but various soil-borne diseases cause serious loss of yield and quality. At present, chemical agents brings problems on soil and water pollution, food safety risks, and also leads to fungicides resistance. It is urgent to find economical and effective green control methods. The use of biocontrol bacteria to control soybean diseases has outstanding advantages in terms of safety, effectiveness, and sustainability. Researchers focused on biological pesticides and biocontrol fungi in recent years. In this paper, 4 soil-borne diseases (soybean root rot, sclerotinia, charcoal rot and cyst nematode) which were extremely difficult to control in soybean production are summarized, and the biocontrol potential and biocontrol of corresponding biocontrol bacteria are reviewed. The mechanism and application status and research directions in the application are prospected, which could provide a reference for the comprehensive prevention and control of soybean soil-borne diseases, in order to promote the sustainable development of the soybean industry.

Key words: soybean; soil-borne diseases; biocontrol bacteria; biocontrol mechanism; application of biocontrol bacteria

收稿日期:2022-08-11

基金项目:上海市自然科学基金(22ZR1442500);上海市科委“一带一路”国际合作项目(20310750500);上海市农业科学院2023年度农业科技创新支撑领域研究专项(农科应基2023);上海市农业科学院卓越团队建设计划项目(沪农科卓[2022]016);上海市科委社会发展科技领域重点项目(19DZ1203802)

作者简介:陈雪(1998-),女,硕士研究生,主要从事农作物微生物功能研究,E-mail: snowchen0124@163.com;§ 同等贡献作者:莫芹(1990-),女,博士,助理研究员,主要从事微生物工程和绿色防控技术的研究,E-mail: moqin@saas.sh.cn

* 通讯作者:吕贝贝(1985-),女,副研究员,博士,主要从事微生物与农业生物安全,E-mail: zxtlbb@163.com;

章寅(1986-),女,高级实验师,硕士,主要从事农作物微生物功能研究,E-mail: zhangyinsy1986@126.com

大豆作为最具经济价值的粮食作物和油料作物之一,在全球50多个国家均有生产,大豆富含高质量的蛋白质、脂肪、维生素和多种矿物质营养素,是植物油和蛋白的重要来源,广泛用于食用油和食品生产^[1~3]。大豆在中国居民饮食结构中占据重要地位,大豆的供给关系到我国饲料、油脂和食用蛋白的安全^[4]。然而,我国不是大豆的主产国,大豆种植面积有限、产量仍然不高。真菌、细菌和病毒等病原微生物的侵染是影响大豆产量的重要因素之一。^[5]据统计,全球大豆病害造成的产量损失达到10%~15%^[6]。

土传病害是指生活于土壤中的植物病原性真菌、细菌、病毒和线虫在条件适宜时侵染植物根、茎部而引起的作物病害^[7]。土传病害的致病菌栖息于土壤中,难以根治,甚至被称为植物癌症^[8]。大豆土传病害主要有大豆根腐病、菌核病、炭腐病和胞囊线虫病等^[9],大豆真菌土传病害被认为是衡量农业集约化对土壤健康影响的一个重要参数^[10]。目前生产上这些病害的防治方法主要为使用化学杀菌剂和培育抗性品种,然而有些病害仍然缺乏高抗品种且仅有少数杀菌剂能够有效,如由多种镰刀菌(*Fusarium* sp.)引起的大豆猝死病^[11]。同时,化学杀菌剂的使用也具有潜在的土壤和水污染风险,威胁食品安全,对人类健康造成损害,且植物病原菌会对杀菌剂产生抗药性^[2]。因此,有必要寻找经济有效、无毒、能消除或降低大豆病害发病率的新型防控策略。近年来在植物营养、生物防治、植物防御启动、寄主诱导基因沉默以及利用精确育种技术开发抗性新品种等方面已经得到广泛发展,大豆土传病害的防控也逐步发展为综合病害管理策略。该策略通常需要结合传统的栽培管理措施和现代农业生物育种技术,包括使用抗病品种、适当的水土管理、施肥、轮作和使用生物防治制剂等,目的是在减少化学制剂使用的情况下维持或提高农业产量^[12]。

植物病害生物防治指的是利用有益微生物或微生物代谢物有效控制植物病害的技术。植物-微生物相互作用在土壤和植物健康中起着重要作用^[13]。相对于化学杀菌剂,利用生防微生物治理植物病原菌具有绿色可持续的优点,是一种对环境友好的农业病害防治方法^[13,14]。目前利用生防微生物对植物土传病害进行防治已经在许多植物上取得成功^[15]。因此,开发生防微生物防治植物土传病害具有巨大潜力,生防菌的开发与应用也受到了肥料和农药公司的关注。目前部分生防菌已成功商业

化,但在应用方面也存在功能组分不清晰、评价标准不统一、品质不稳定等问题。了解生防菌的作用模式以及生防机制能够促进高效广谱的防治产品的开发。本文主要针对大豆的主要土传病害进行归纳,整理其生防菌和生防机制的研究进展,为大豆病害的生物防治进一步研究提供理论依据,以尽量减少化学杀菌剂的使用,保护环境的同时提高大豆质量和产量^[16]。

1 大豆主要土传病害概述

由真菌、细菌、线虫和病毒引起的多种病虫害的频繁发生制约着中国大豆的稳产和高产,影响了农民种植大豆的积极性,也是中国大豆生产缺乏国际竞争力的一个重要原因^[17]。土传病害的防治往往要具挑战性,了解其致病机制的基础对于控制病害至关重要。本文主要针对大豆根腐病、菌核病、炭腐病和胞囊线虫病四种较难防治的土传病害,概述其一般发病特征和致病机制。

1.1 大豆根腐病

大豆根腐病是一种世界性的土传病害,危害大豆生产的整个生命周期,严重降低大豆产量,是大豆生产中最严重的病害之一^[2]。大豆根腐病是指由多种病原引起的大豆根部及茎基部病害的统称,病原种类复杂是诊断及防控该病害的根本难题,目前已报道的病原种类已有数十种。我国大豆根腐病病原菌主要有大豆镰刀菌(*Fusarium* spp.)、腐霉菌(*Pythium* spp.)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)和大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)等。大豆根腐病菌大多通过土壤、病残体或种子传播,在苗期侵染后直接危害大豆根茎部,使大豆植株根部的酶或其它物质的活性、数量受到不同程度的影响,从而减弱植株根系对土壤中水分和养分的吸收,或在初期侵染定殖以后直至大豆生长中后期才显现症状。病菌在土壤或病残体上越冬,成为翌年主要初侵染源。由于其在土壤中的持久性和广泛的宿主范围,很难使用杀真菌剂和栽培措施来控制土传病原体。在防控对象上应考虑多种病原物复合侵染,并注意关键发病时期^[17~20]。

1.2 大豆炭腐病

在植物病原真菌中,菜豆生壳球孢(*Macrophomina phaseolina*)是最具毒力和危险性的植物病原菌之一。这种真菌导致的大豆炭腐病在美国、印度、巴西、日本及南斯拉夫等国每年都造成大豆严重减产^[21],在我国河南、湖北及江苏等省也有发生和分

布^[22]。病原体的危害性在于一旦发生感染,它就会产生酶和毒素,通过微菌核和菌丝体侵染根部,降解茎和根组织,在两到三周内定殖。菜豆生壳孢菌感染植物的维管系统,从而干扰营养物质和水分在叶片间的运输,导致叶片枯萎和过早死亡。由于微菌核的形成,根和茎的下部出现灰色或银色变色。该病原菌在土壤中存活长达15年,并影响植物的全部生长阶段^[3,23,24]。

1.3 大豆菌核病

大豆菌核病的病原为核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*),核盘菌可以侵染75科400多种植物,并导致典型的茎腐病症状,如叶、主茎和枝条上柔软的水状皮损或浅棕色变色区域^[25]。已知核盘菌附着在寄主表面并穿透植物角质层,这种真菌病原体能够在不同的植物生长阶段入侵不同的大豆组织,如茎、根和豆荚^[26]。核盘菌与大豆的叶片或茎秆等部位接触后,形成侵染垫,通过机械压力或分泌角质酶侵入寄主,并分泌草酸、细胞壁降解酶等在寄主体内定殖、扩展,直到危害寄主出现相应的病理症状,造成菌核病的发生^[27]。核盘菌通常通过孢子和菌核的形式传播,菌核即使在恶劣的环境条件下也能存活,作为休眠体在田间有越冬的能力^[28]。菌核可以产生子囊并释放孢子,孢子可以通过风和雨传播,在适当的温度和湿度条件下感染植物,菌核也可以萌发并直接侵染寄主植物^[26]。由核盘菌(*S. sclerotiorum*)引起的病害已造成世界上许多重要经济作物的严重损失。由于菌核在土壤中的长期存在和气传子囊孢子的产生,合成杀菌剂对该病的防治作用有限^[25],尽管已经研究了几种生物防治剂来控制不同作物的核盘菌,但关于大豆中核盘菌的生物防治剂仍然很少^[29]。

1.4 大豆胞囊线虫病

大豆胞囊线虫(soybean cyst nematode, SCN)是一种土传植物寄生线虫,SCN侵染根部形成胞囊,并导致植物早期变黄,影响植株发育,可造成5%~10%减产,在发病严重地块高达30%以上甚至绝产,每年我国因SCN病造成损失达6亿元以上^[30]。与此同时,在美国,SCN每年造成的损失估计超过10亿美元。SCN在土壤中作为卵在胞囊中存活。在生长季节开始时,一部分卵孵化,第二阶段幼体(J2)迁移到根部,穿透根部组织并向维管束移动,雌虫在维管束中建立一个摄食点(合胞体),并在其剩余生命周期内保持不动。SCN会带走大豆植株的营养,从而降低植株的生长和产量。SCN使寄生根部

发育不良,形成的创面也易被其它土传病原菌侵染,加剧减产,因此大豆胞囊线虫病防治对大豆生产至关重要。SCN病为土传病害,同时受胞囊外壳的保护作用可在土壤中存活多年,防治困难。因此,寻找一种简单、生态友好、有效的方法来控制SCN对于现代农业至关重要^[31,32]。

1.5 其它大豆土传病害

土传病害逐年加重已成为制约我国农牧业发展的主要原因^[15],在大豆生产过程中,除上述提到的常见的几种土传病害外,还存在大豆灰霉病、大豆炭疽病、大豆霜霉病、大豆立枯病、大豆白叶枯病等病害,这类病害的病原物其生活史一部分或大部分存在于土壤中,在条件适宜时病原物萌发并侵染植物根部或茎部导致大豆发生病害^[33]。由于其通过土壤传播的共性特征防治极其困难,目前以化学防治为主并进行综合病害管理,在防治管理方面任重道远。

2 大豆土传病害的生防菌及其生防机制研究进展

生防菌在田间条件下的生防效果与室内测试往往不一致,其中一个原因是我们对控制植物和生防菌联合的复杂动态缺乏了解^[34],了解生防菌和目标植物病原物之间相互作用的机制对于加强生防菌在农业中的应用至关重要^[35]。目前所报道的大豆生防菌主要有芽孢杆菌、假单胞菌、伯克霍尔德氏菌、丛枝菌根真菌、木霉菌、链霉菌等(表1),涉及真菌、细菌和放线菌三种类型。所涉及生防菌的生防机制总体可以分为两类,一类是通过多重机制直接作用于病原物抑制其生长,如寄生作用、竞争作用、抗菌作用等,另一类是通过一些信号分子包括分泌的酶和次生代谢物等激活植物对病原菌抗性相关基因的表达,诱导寄主植物对病原物的抗性以及通过促生作用间接影响病原物。直接作用与间接作用的生防机制通常协同产生对病原物的生防效果。

2.1 大豆根腐病生防菌

大豆根腐病的防控难题在于病原菌种类多样复杂,病菌在土壤和残体上越冬。不同地区根腐病的病原菌不同,但目前全世界报道的最主要的两种病原菌是大豆尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)和大豆疫霉菌(*P. sojae*)。

大豆尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)是强致病种且生防研究较广泛。在目前所研究的生防菌中,芽孢

表1 大豆土传病害病原物及生防菌汇总
Table 1 Summary of Soybean Soil-borne Disease Pathogens and Biocontrol Bacteria

病害 Plant disease	病原物 Pathogens	生防菌菌株 Biobacterient strains	生防机制 Biodefense mechanisms	文献 Ref.
大豆根腐病 Soybean root rot	<i>Fusarium oxysporum</i>		破坏菌丝体细胞结构、影响碳氮代谢和活性氧清除机制、抑制CWDE的分泌、抑制运输功能	
		<i>Bacillus subtilis</i> HSY21	It destroys the structure of mycelium cells, affects the mechanism of carbon and nitrogen metabolism and reactive oxygen species, inhibits the secretion of CWDE, and inhibits the transport function	[2]
		<i>Bacillus subtilis</i> BS06	竞争作用、诱导植物抗性、促进植物生长	[13]
		<i>Trichoderma harzianum</i>	寄生、诱导抗性基因	[18]
	<i>Phytophthora sojae</i>		Parasitic and induced resistance genes	
		<i>Bacillu svezensis</i> FZB42	分泌抗生素菌溶素,抑制病原生长基因	[36]
			Secretes the antibiotic bacteriolysin, which inhibits pathogenic growth genes	
		<i>Aquatic pseudomonads</i>	表达铁载体,产生抑菌化合物	[37]
			Expression of siderophore, production of bacteriostatic compounds	
		大豆根瘤内生菌	竞争铁载体,产生细胞裂解酶	[38]
大豆菌核病 Soybean sclerotia	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Soybean nodule endophytes	Compete for siderophore, producing cell lyase	
		<i>Trichoderma harzianum</i> 303/02	寄生和分泌细胞裂解酶	[28]
			Parasitic and secreted cellular lyases.	
		<i>Trichoderma harzianum</i>	诱导抗性基因,提高抗氧酶活性,增强生物量	[39]
			Induce resistance genes, increase antioxidant enzyme activity, enhance biomass	
		多种真菌菌株次生代谢物曲酸	调控合成菌核相关成分基因,抑制菌核的形成	
		A variety of fungal strains secondary metabolite kojic acid	Regulates the genes of synthetic sclerotia-related components and inhibits the formation of sclerotia	[26]
		<i>Xenorhabdus szentirmai</i>	抗生素和酶抑制	[20]
			Antibiotic and enzyme suppression	
		<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MEP218 /ARP23	环状脂肽家族的抑制作用:surfactins、fengycins 和 iturins	[40]
大豆炭腐病 Soybean charcoal rot	<i>Macrophomina phaseolina</i>	<i>Streptomyces</i> NEAU-S7GS2	产生水解酶和活性次生代谢产物抑制菌丝菌核	[25]
			The production of hydrolytic enzymes and active secondary metabolites inhibits the sclerotia of the mycelium	
		<i>Streptomyces</i> sp.	九种化合物具有抗菌活性	[41]
			Nine compounds have antimicrobial activity	
		<i>Bacillus subtilis</i> M-4	细胞壁降解酶、亲脂次生代谢产物提高生理表现和抗氧化反应	[23]
			Cell wall degrading enzymes and lipophilic secondary metabolites enhance physiological performance and antioxidant response	
		<i>Bacillu</i>	多种抗生素和抗菌化合物	[3]
			A wide range of antibiotics and antimicrobial compounds	
		<i>Bacillus</i>	抗菌化合物活性、溶解不溶性磷酸盐	[21]
			Antimicrobial compounds active, dissolved insoluble phosphates	
		<i>Bacillus subtilis</i>	Phi触发SAR <i>Bacillus subtilis</i> 诱导ISR	[42]
			Phi triggers SAR <i>Bacillus subtilis</i> to induce ISR	
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	吩嗪是抗真菌活性的主要代谢产物	[43]
			Phenazine is the main metabolite of antifungal activity	
		AMF	抗氧化和诱导防御反应机制	[26]
			Antioxidant and induce defense response mechanisms	
		<i>Trichoderma</i> spp	寄生和降解病原菌菌丝体	[24]
			Parasitic and degrading pathogenic mycelium	

续表

病害	病原物	生防菌株	生防机制	文献
Plant disease	Pathogens	Biobacterient strains	Biodefense mechanisms	Ref.
大豆胞囊线虫 Soybean cyst nematodes	Heterodera glycines Ichi- nohe	<i>Burkholderia gladioli</i> MB39	破坏菌丝结构抑制生长 Disruption of hyphae structure inhibits growth.	[44]
		<i>Microbacterium maritipii</i> - cum Sneb159	诱导参与水杨酸(SA)和茉莉酸(JA)信号通路的防御相关基因的表达 Induces the expression of defense-related genes involved in the salicylic acid (SA) and jasmonic acid (JA) signaling pathways.	[37]
		<i>Microbacterium maritipii</i> - cum Sneb545	诱导ISR并确定诱导决定性因素为六个活性化合物 Induce ISR and determine the determinants of induction as six active compounds.	[38]
		AMF	引起宿主的根细胞和植物防御信号的反应 Eliciting responses to host root cells and plant defense signals.	[25]
		生防菌组合防治	生防菌组合防治可能会增加细菌和植物产生的毒素、酶或代谢物 Biocontrol combination control may increase toxins, enzymes, or metabolites produced by bacteria and plants.	[45]
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> SnebYK	缓幼虫向成年雌性线虫的发育并减少了雌性和卵子的数量,阻碍交配和繁殖 Slow larval development into adult female nematodes and reduce the number of females and eggs, hindering mating and reproduction.	[24]
		<i>Bacillus megaterium</i> Sn- eb207	延长大豆胞囊线虫的发育阶段 Prolongation of the developmental stage of soybean cystic nematodes.	[31]
大豆灰霉病 Soybean gray mold	<i>Botrytis cine- rea</i>	<i>Bacillus Subtilis</i> BBG125	分泌过量的抗霉菌枯草杆菌素(Mycosubtilin) Excessive secretion of anti-mycobacterium subtilisin	[46]
大豆立枯病 Soybean blight	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Bacillus</i> BNM 122	分泌表面活性素(surfactin)和类伊枯草素(iturin-like)组合防治 Secretion of surfactin and iturin-like combination control	[16]
		<i>Trichoderma longibrachia-</i> tum S12	产生果胶酶和几丁质酶以及具有溶解磷的能力 Pectinase and chitinase are produced and have the ability to dissolve phosphorus	[47]
		<i>Trichoderma asperellum</i> S11	产生铁载体和吲哚乙酸(IAA), 促生作用 Produces siderophores and indoleacetic acid (IAA), which promote growth	
		<i>Trichoderma troviride</i> PHY- TAT7		
大豆炭疽病 Soybean an- thraxnose	<i>Colletotri- chum Brevis- porum</i>	<i>Paecilomyces maximus</i> NJC01	竞争空间和营养物质以及产生次生代谢物染料木素 Competition for space and nutrients and the production of secondary metabolites genistein.	[48]
大豆白叶枯病 Soybean white leaf blight	<i>P. syringae pv. glycinea</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> Pss22d	竞争营养并且阻断制病原菌进入入侵点 Compete for nutrients and block pathogenic bacteria from entering the point of entry.	[49]

杆菌因具有抗逆性强、繁殖快、营养要求简单、易于在植物表面定殖等特点已成为生物防治研究的热点,其生防机理涉及直接作用与间接作用的多重生防机制^[2]。枯草芽孢杆菌 BS06 (*Bacillus subtilis* BS06)菌株通过竞争作用、诱导植物抗性、促进植物生长等对大豆尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)产生生防效果。经 BS06 菌株处理的染病植株比多菌灵具有更高的根生物量、株高、叶片叶绿素含量,且 BS06 溶液能长期储存,使其生防效果具有可持续性^[13]。枯草芽孢杆菌 HSY21(*B. subtilis* HSY21) 对大豆尖孢镰刀菌抑制率为 81.30%,进一步的分子机理研究表明该菌株直接作用于病原物,通过破坏菌丝体细

胞结构、影响碳氮代谢和活性氧(reactive oxygen species, ROS)清除机制、抑制细胞壁裂解酶的分泌、抑制转运蛋白功能进而抑制尖孢镰刀菌的生长和致病基因的表达,从而有效控制尖孢镰刀菌诱导的大豆侵染^[2]。此外,哈茨木霉(*Trichoderma harzia-num*)也能抑制尖孢镰刀菌生长,防治大豆根腐病。转录组水平分析表明其生防机制与提高活性氧水平、诱导病程相关(pathogenesis-related, PR)蛋白表达和活性氧清除酶活性以及减少病原菌细胞死亡有关^[18]。

大豆疫霉菌(*P. sojae*)作为卵菌引起的根腐病很难防控,它们较易进化以克服杀菌剂或宿主的遗

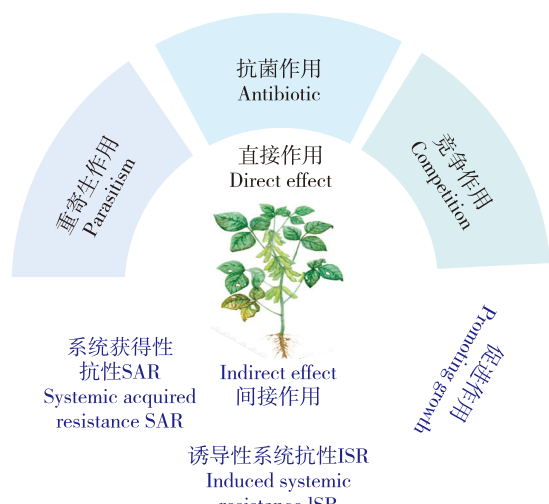


图1 大豆生防菌生防机制

Fig. 1 Biocontrol mechanism of soybean biocontrol bacteria

传抗性^[50]。贝莱斯芽孢杆菌菌株 FZB42 (*B. velezensis* FZB42) 由双肽抗生素杆菌溶素介导对大豆疫霉 (*P. sojae*) 具有拮抗活性, 进一步用转录组学方法表明菌株 FZB42 显著抑制大豆疫霉生长、生物大分子合成、致病性和核糖体相关基因的表达^[36]。水生假单胞菌 (*Aquatic pseudomonads*) 由于其表达铁载体和分泌多种化合物能够有效抑制卵菌, 该菌的水生环境能够使其产生新型拮抗化合物, 例如野生型菌 06C126 的拮抗活性明显高于土壤菌株^[37]。此外, 内生菌由于其适应植物内生环境且与致病菌竞争的生防优势, 近年来被广泛研究用于植物病害的防治。在大豆根瘤中分离筛选出 11.2% 的根瘤内生细菌对大豆疫霉具有显著的抑制活性, 所筛选的内生菌涉及到的生防机制是, 生防菌与病原体竞争铁载体和产生胞外几丁质酶以及层粘连蛋白酶以裂解真菌细胞, 并降解真菌病原菌产生的镰孢菌酸 (fusaric acid)^[38]。

2.2 大豆菌核病生防菌

由于核盘菌 (*S. sclerotiorum*) 菌核能够在土壤中长期存在并且产生的子囊孢子能够通过空气传播, 因此合成杀菌剂在控制病原方面作用有限, 而应用拮抗菌能有效减少菌核数量, 最终减少土壤中的核盘菌的丰度。其中木霉属 (*Trichoderma* spp.) 是所报道的拮抗核盘菌的优势菌株。重寄生是木霉拮抗植物病原真菌的主要机制之一并伴随着多种机制协同作用。重寄生是指一种寄生生物又被其它寄生生物寄生的现象, 它涉及对病原菌的侵袭、识别、接触、缠绕、穿透和寄生一系列连续步骤的复杂过程^[45]。在生防机制中, 病原菌寄主菌丝会分泌一些化合物, 而木霉可以识别这些化合物并趋

向寄主菌生长, 当木霉菌丝和病原菌接触后, 木霉菌丝沿病原菌菌丝螺旋状缠绕生长, 并产生附着胞状分枝吸附于病原菌菌丝上^[51]。哈茨木霉 303/02 (*T. harzianum* 303/02) 能够生长在核盘菌的菌丝体、菌核和子囊壳上, 覆盖整个培养基面, 并且在菌核和子囊团表面大量繁殖, 形成致密的菌丝体穿透结构^[28]。分离自芦荟的哈茨木霉在与菌核病菌丝平行或交织生长过程中还能产生钩状接触枝, 加强其寄生作用^[39]。另外, 在寄生过程中木霉生防菌可以产生和分泌类胰蛋白酶以及丝氨酸蛋白酶等参与细胞结构蛋白的降解, 破坏宿主细胞的完整性, 促进木霉的渗透和定殖。伴随着寄生作用, 木霉诱导核盘菌侵染后的 PR 蛋白表达, 提高抗氧化酶 (过氧化物酶 POD、超氧化物歧化酶 SOD 和过氧化氢酶 CAT) 的活性、提高叶绿素和酚的含量、降低 ROS 含量并减轻病原菌胁迫对大豆叶片细胞膜的损伤等生理和分子机制也参与了生防的过程^[28,39]。

真菌与细菌产生的代谢产物以及有机化合物对病原菌的抑制作用也引起了研究者的广泛关注。曲酸 (kojic acid, KA) 是一种可以由多种真菌菌株产生的常见次生代谢物, 参与黑色素合成途径的聚酮合酶 pks 12 的基因在 KA 处理后下调表达, KA 通过抑制几丁质和黑色素的合成, 进而抑制菌核的形成^[26]。嗜线虫致病杆菌 (*Xenorhabdus szentirmaii*) 的无细胞上清液对核盘菌菌丝体和菌核的生长抑制率 >98%, 无细胞上清液的抑制率随着次生代谢物 (抗生素和外酶) 的积累而提高^[14]。解淀粉芽孢杆菌菌株 MEP218 /ARP23 (*B. amyloliquefaciens* MEP218 /ARP23) 也被证明能够产生三种环状脂肽: 表面活性素 (surfactins)、丰原素 (fengycins) 和伊枯草素 (iturins) 对菌核病的生物防治有效^[40]。

除真菌细菌外, 放线菌中也发现对核盘菌有明显抑制作用的生防菌。链霉菌属 NEAU-S7GS2 (*Streptomyces* sp. NEAU-S7GS2) 菌株具有一些与氮同化、磷酸盐溶解和生长素合成相关的基因, 如编码 ACC 脱氨酶、葡聚糖酶和 α -淀粉酶的基因以及负责铁载体生物合成的基因簇。该菌株通过产生水解酶和活性次生代谢产物抑制核盘菌的菌丝生长和菌核萌发^[25]。Liu 等^[41] 从大豆健康和病根表面灭菌的根中分离到 70 株内生放线菌, 分属于 14 个属。其中 4 株链霉菌具有较强的拮抗活性, 其抑制率为 54.1% ~ 87.6%, 检测到的包括 6 个大环内酯类化合物 (macrolides)、2 个二酮基哌嗪类化合物 (diketopiperazines) 和 1 个 2-氧杂环酮类化合物 (2-ox-

onanonoids)都对核盘菌均表现出明显的抗真菌活性。

2.3 大豆炭腐病生防菌

大豆炭腐病是由菜豆生壳球孢(*M. phaseolina*)引起的病害,在多个大豆主产国均有发生,但目前在我国却鲜有报道。张吉清等^[52]认为该病鲜报道的原因可能是大豆植株在早期被该菌侵染,但到生育后期才表现病症,因此常被误以为是生理病因,因此他们认为目前随着气候变化,要加强对大豆炭腐病的防治研究。目前报道的大豆炭腐病的生防菌主要有芽孢杆菌属、假单胞菌属、木霉属、伯克霍尔德氏菌属和丛枝菌根真菌等。

芽孢杆菌生防菌能产生抗生素、毒素和胞外降解酶,如几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶等,破坏病原菌细胞壁,从而抑制病原菌生长^[13]。枯草芽孢杆菌M-4(*B. subtilis* M-4)能产生纤维素酶、几丁质酶和 β ,1-3内切葡聚糖酶等细胞壁降解酶,能够使菜豆生壳球孢(*M. phaseolina*)的细胞壁解体。在共培养条件下菌株M-4产生亲脂的次生代谢产物,有效地抑制了菜豆生壳球孢(*M. phaseolina*)的防御化合物^[53]。Kriti等^[25]报道了假单胞菌属和芽孢杆菌属产生多种抗生素化合物,可有效控制菜豆生壳球孢。盐田根际分离出的芽孢杆菌可溶解不溶性磷酸盐,产生结构稳定的抗菌化合物,因此其对菜豆生壳球孢的拮抗活性不受生长阶段的影响。枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)与生物农药联合使用也是一种新策略。温室试验下联合使用枯草杆菌54(*B. subtilis*54)菌株与亚磷酸锰(Phi)能够显著降低病情严重程度,其中涉及的机制可能与Phi触发的系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)和由植物促生菌(plant growth promoting bacteria, PGPB)诱导的诱导性系统抗性(induced systemic resistance, ISR)有关^[42]。

此外,荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)可产生抗真菌代谢物质吩嗪,从而对菜豆生壳球孢(*M. phaseolina*)有显著的抑制作用^[43]。荧光假单胞菌9(*P. fluorescens* 9)在温室试验下对菜豆生壳球孢的抑制率达到了82%^[39]。丛枝菌根真菌(*Arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF)作为地球上最古老和分布最广泛的共生真菌,通过减少氧化损伤和增强防御反应从而减少菜豆生壳球孢对根的感染并且能够减轻病害症状^[54]。木霉对菜豆生壳球孢(*M. phaseolina*)的抑制主要通过上述所提到的寄生和降解病原菌菌丝体的方式。多项研究表明拮抗菌株的拮抗

活性和菌株的来源有关,适冷性的菌株具有耐低温、吸收不同碳源生长和利用多种营养元素的能力。最近从南极分离了一株伯克霍尔德氏菌MB39(*Burkholderia gladioli* MB39)^[44]对植物病原菌显示广谱抗性,对菜豆生壳球孢菌丝的抑制作用尤为突出,在菌株MB39的抑制作用下,菌丝结构和细胞形态发生严重变化,菌丝体扁平,胞质渗漏。

2.4 大豆胞囊线虫生防菌

大豆胞囊线虫生物防治是大豆害虫综合防治的重要组成部分。目前所报道的真菌生防机制主要以诱导植物抗性以及抑制线虫生长发育为主^[49]。在诱导植物抗性方面,生防菌所涉及的生防机制主要有两种:一种是由内源信号分子水杨酸(salicylic acid, SA)介导的SAR,另外一种是通过植物激素茉莉酸(jasmonic acid, JA)和乙烯(ethylene, ET)介导的ISR^[55],两种植物抗病信号传导途径间又具有交叉作用机制。SAR与ISR是植物响应病原物侵染的主要途径,在植物抵抗生物胁迫上发挥了重要作用。盐生微杆菌Sneb159(*Microbacterium maritipicum* Sneb159)能够显著降低线虫种群密度,裂根试验表明其诱导局部和系统抗性,抑制线虫的侵染和发育,并诱导参与水杨酸(SA)和茉莉酸(JA)信号通路的防御相关基因PR2、PR3b和JAZ1的表达^[56]。简单芽孢杆Sneb545(*B. simplex* Sneb545)包衣的大豆种子能够获得诱导性系统抗性(ISR),核磁共振的氢谱和碳谱分析确定了其诱导抗性的决定因素为六个活性化合物,分别为环状(脯氨酸-酪氨酸)、环状(结氨酸-脯氨酸)、环状(亮氨酸-脯氨酸)、尿嘧啶、苯丙氨酸和色氨酸^[57]。此外,生防菌丛枝菌根真菌孢子分泌物也能引起宿主的根细胞和植物防御信号的反应变化^[32]。

在生防菌抑制线虫发育方面,对于大豆胞囊线虫来说,雌虫决定了种群的大小和损害的程度^[56],所以在生防控制方面要重点防治雌性线虫。通过包衣大豆种子,肺炎克雷伯菌SnebYK(*Klebsiella pneumoniae* SnebYK)不仅减少了大豆根中大豆胞囊线虫的数量,而且还抑制了雌性成虫的数量。数据表明,菌株SnebYK可以有效地延缓幼虫向成年雌性线虫的发育并减少了雌性和卵子的数量,阻碍交配和繁殖,从而降低甘氨酸的丰度^[31]。与其抑制机制相似的是,巨大芽孢杆菌Sneb207(*B. megaterium* Sneb207)菌株Sneb207的抗线虫机制也延长了大豆胞囊线虫的发育阶段^[58]。基于长达3年多的长期轮作田间试验,Deepak等^[49]筛选出20个分离自SCN包

囊中的生防菌株,其生防机制主要涉及抑制线虫卵化、抑制线虫发育致其在J2阶段死亡、寄生三方面作用。

2.5 其它大豆土传病害生防菌

目前,除上述所涉及的几种大豆土传病害之外其它病害的生防菌研究报道较少。大豆灰霉病的生防菌有贝莱斯芽孢杆菌 CMRP 4490 和枯草芽孢杆菌 BBG125^[46,59]。芽孢杆菌 BNM 122 (*Bacillus* BNM 122)以及从大豆植物中分离出的真菌长柄木霉 S12(*Trichoderma longibrachiatum* S12)、阿斯氏木霉 S11(*Trichoderma asperellum* S11)、阿托韦木霉 PHYTAT7(*Trichoderma troviride* PHYTAT7能够有效防治因立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)导致的大豆立枯病^[16,47]。此外,对大豆炭疽病的病原菌短孢炭疽菌(*Colletotrichum Brevisporum*)抗真菌机制极大拟青霉 NJC01(*Paecilomyces maximus* NJC01)^[48];以及有效抑制大豆白叶枯病病原菌(*P. syringae* pv. *Glycinea*)的丁香假单胞菌 Pss-22d(*Pseudomonas syringae* Pss22d)^[60,61]。

3 生防菌的应用及潜在问题

与化学合成农药相比,生防制剂来自于自然环境,具有高效、低毒、不污染环境和不易产生抗药性等优点,具有较好的应用前景,部分生防菌注册的发明专利已公开应用(表2)。生防菌株类型多样,在施用方法方面,相同生防菌的施用方法不同,生防效果也有所差异。研究发现利用枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)处理土壤比处理种子对大豆尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)根腐病的防治效果更好,这可能是因为将细菌与土壤混合有助于在土壤和根际中建立大量且均匀的枯草芽孢杆菌种群,从而使病原体 and 抗真菌细菌之间能够频繁接触^[62]。

目前大豆土传病害的生物防治已有大量实验室成功案例的报道,但与实验室的防治效率相比,

许多在实验室中看起来很有希望的生物防治候选菌未能在田间表现出足够的功效,因为它们的功效可能会受到环境条件的高度影响。大田环境下的紫外线照射、土壤微生物种群与数量以及土壤理化性质的改变,如土壤温度、湿度、pH值、营养水平的影响等都对生防菌株的适应性及对病原菌的防控效果产生极大的影响^[63]。枯草芽孢杆菌 HSY21(*B. subtilis* HSY21)在田间条件下对大豆根腐病的控制效果比实验室条件下下降了 24.23%^[2]。在环境中的定殖能力差,存活率低,生防效果不稳定等问题是田间防效的关键问题。充分考虑气候与施药时间、剂型选择的匹配程度并优化施用方式等因素是可以提高田间防效的方案,但是通过大范围的田间调查与长时间的反复验证才能保证生防效果的稳定性^[64]。此外,还可以通过使用分子技术(例如宏基因组学)、生态动力学和统计学等新方法来在田间试验中调查生物防治剂对宿主植物的生理和生态影响以及对田间环境的影响。Murphy 等提供了一套详细的从概念到商业的开发内生菌接种剂的方案,他们通过成功开发大麦的内生菌接种剂从而制定了一套适用于任何作物及环境的基本原则,这将为目前增强田间防效的研究作参考并有利于进一步了解如何克服未来的挑战^[65]。

成功的生防菌必须是一种侵略性的定殖者,有足够的耐受性,在其配制和使用过程中能够在加工和储存条件下生存下来,同时在各种不利环境中更具竞争力^[66]。芽孢杆菌属是商业化较成功的生防菌产品,因为其产生的内生孢子的抗性特征可以确保细菌在工业加工过程中和在环境中传播后的持久性,可以广谱的抗菌次级代谢物^[67]。过去十年,生防菌制备的生物防治产品仅占全球所有农药市场销售额的 1%^[46],作为商业应用的生物防治剂的开发还存在一些其它限制和技术挑战^[68],例如保持生物防治剂的数量,以及对其它植物和微生物的潜在

表 2 已公开的大豆生防菌剂专利

Table 2 Published patents for soybean bacteriocides

序号 Number	菌株 Strains	保藏编号 Preservation number	防治病害 Prevention and control of dis- eases	专利名称 Patent name	专利号 Patent number
1	<i>treptomycetes</i> <i>Louchet</i>	CGMCC NO.17115	大豆根腐病(疫霉菌) Soybean root rot (<i>Phytophthora</i> <i>phytopa</i>)	生防放线菌及应用 Biocontrol actinomycetes and applications	CN201910577009
2	<i>Streptomyces</i> <i>graminis</i>	CGMCC- NO.8961	大豆根腐病(疫霉菌) Soybean root rot (<i>Phytophthora</i> <i>phytopa</i>)	一种防治大豆疫病的生防放线菌菌株及其应用 A biocontrol actinomycete strain for the control of soybean blight and its application	CN201611185978

续表

序号 Number	菌株 Strains	保藏编号 Preservation number	防治病害 Prevention and control of dis- eases	专利名称 Patent name	专利号 Patent number
3	<i>Pythium oligosporum</i> Pyo343	CGMCC NO.20224	大豆根腐病 Soybean root rot	一种植物根腐病生防菌及其应用 A kind of plant root rot biocontrol bacteria and its ap- plication	CN202010994829
4	<i>Bacillus siamensis</i> HT1	CCTCC NO: M20211539	大豆根腐病 Soybean root rot	一种生物防治菌 <i>Bacillus siamensis</i> HT1 及其在制 备生防菌剂中的应用 A biological control bacterium <i>Bacillus siamensis</i> HT1 and its application in the preparation of biocon- trol agents	CN202210261346
5	<i>Pseudomonas viridis</i> Pc32	CGMCC NO.21150	大豆根腐病(疫霉菌) Soybean root rot (<i>Phytophthora phytopa</i>)	一种绿针假单胞菌菌株、生防菌剂及其制备方法 与应用 A kind of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain, biocontrol agent and preparation method and application thereof	CN202011580500
6	<i>Bacillus amylolyti- cus</i> BA20	CGMCC No.19052	大豆菌核病 Soybean sclerotinia	一种防治大豆菌核病的生防细菌 BA20 及其应用 Biocontrol bacteria BA20 for the control of soybean sclerotinia and its application	CN201911367150
7	<i>Paecilomyces li- lacinus</i> YT08	CGMCC No.10026	大豆根结线虫 Soybean root-knot nematodes	一种农业根结线虫复合生防菌剂的制备方法及其 应用 Preparation method and application of agricultural root-knot nematode composite biofungicide	CN201510808455
8	<i>Methyl nutritive bacillus</i> WSW- GH-10	CGMCC No.11541	大豆根腐病菌、大豆菌核病菌 Soybean root rot bacteria, soy- bean sclerotinia	一种用于防治烟草细菌病害的复合菌剂 A compound bacteriological agent used to prevent and control tobacco bacterial diseases	CN201510762018
9	<i>Rhizobium sinen- sis</i> L396 and <i>Bacillus subtilis</i> Snb2	CGMCC No.1851 和 CGMCC No.1850	大豆胞囊线虫和大豆根腐病菌 Soybean cystic nematodes and soybean root rot bacteria	一种采用根瘤菌防治大豆根部病害的新方法 A new method for controlling root diseases of soybean using rhizobia	CN200610137800
10	<i>Simple bacillus</i> Sneb545	CGMCC No.6650	大豆胞囊线虫 Soybean cyst nematodes	一株具诱导大豆抗大豆胞囊线虫的简单芽孢杆菌 及应用 A simple bacillus strain with inducing resistance of soy- bean to soybean cyst nematodes and its application	CN201210414207
11	<i>Bacillus altitudinis</i> 181-7	CGMCC No.20132	大豆根腐病(疫霉菌和禾谷 镰刀病菌) Soybean root rot (<i>Phytophthora and Fusarium graminear</i>)	一株高地芽孢杆菌及其应用 A strain of <i>Bacillus altitudinis</i> and its application	CN202011532143
12	<i>Trichoderma echinosporium</i> YN4	GDMCC NO: 62007	大豆根腐病、大豆纹枯病 Soybean root rot, soybean blight	一株棘孢木霉及其应用 A strain of <i>Trichoderma echinococcus</i> and its applica- tion	CN202111668840
13	<i>Hanseniaspora uvarum</i> MP1861	CCTCCNO:M 2021613	大豆根腐病(疫霉菌) Soybean root rot (<i>Phytophthora phytopa</i>)	一株具有抑菌作用的葡萄汁有孢汉逊酵母 MP1861 及其应用 A grape must, which has bacteriostatic effects, has the sporum hansonian yeast MP1861 and its application	CN202110663876
14	<i>Gloeotinia nemati- cida</i> Snef5	CGMCC No.4549	大豆胞囊线虫、大豆根结线虫 Soybean cyst nematode, soy- bean root-knot nematode	具毒杀植物线虫活力的生防真菌 <i>Gloeotinia</i> 的制备 方法 Preparation method of biocontrol fungus <i>Gloeotinia</i> with toxic plant nematode viability	CN201110049246
15	<i>Bacillus pumilus</i> NMCC46	CGMCC No.3378	大豆根腐病 Soybean root rot	短小芽孢杆菌(<i>Bacillus pumilus</i>)NMCC46 及其应用 Bacillus breve (<i>Bacillus pumilus</i>) NMCC46 and its applications	CN200910223358

风险。

单一菌群的生防制剂受到环境的制约以及环境微生物的竞争等因素的影响,防治效果难以稳定。随着有益微生物联合体的不断研究,应用生防菌群是改善单一菌株生防效果不足的有效方式。相比于单一生防菌株,生防菌群药剂生产成本、货架期(销售保质期)及有效时长等方面有更多优势^[64]。例如有研究将多个木霉菌生防菌株 FMM9、FMM35、细菌 B7 和毛壳菌 CHZ1 组合成 C1 菌剂进行复配,对大豆根腐病防效达到 26%^[69]。王卫雄等^[70]提出生防菌群增强防病效果的原因可能是生防菌群防病机制更多样,具有更广的抑菌谱,生防菌种间进行互作从而增强抗病基因的调控。

4 总结与展望

大豆在我国粮食安全中占有重要地位。土传病害是大豆集约化种植难以避免的问题,是制约大豆产量的重要因素之一。本文综述了目前国内外大豆种植中较难防治的四种土传病害特征及其致病机制,并归纳了对应生防菌和生防机制的研究进展。这些生防菌来源多样,主要是根际微生物和内生菌,生防菌类型涉及真菌、细菌和放线菌三大类。生防菌机制主要有竞争养分和空间、分泌抗生素、产生抗菌化合物等直接作用机制,以及诱导植物对病原物的抗性的间接作用机制,这些机制协同运作帮助大豆植株对病原物产生抗性。

绿色发展、化学减量是新形势下农药产业的必然要求。目前,生防菌作为生物防治剂成功防治大豆土传病害的报道有很多,包括芽孢杆菌属、木霉属、链霉菌属等,但大量生防菌缺乏田间实践以及明确的作用机制,使其商业化的成功率较低。因此为进一步应用生防菌有效防治大豆病害,今后的相关研究重点还需从以下几个方面进行:

(1)从分类学、生物学和生态学的角度来看,准确了解病原体的多样性至关重要。病原体传播方式和致病机制对防治病害有直接影响,应进一步增进对病原体之间的了解。进一步深入分子方面的生防菌机制研究,建立生防机制的检测与分析体系,奠定方法学基础。

(2)加深培养组学和宏基因组学研究进而筛选生防菌种资源,识别有益生防菌和其它微生物共生体的关联并阐明其作用模式,深入开展多种微生物菌剂协同增效的功能、性质和互作机制进而开发高效、稳定的功能菌群。

(3)加快研究生防菌在田间条件下的生态适应性并建立统一的评价标准,对建立的接种剂的测试与评估以及干预后生防效果的长期追踪,分析其动态变化趋势,对生防功能的时效性和遗留效应建立评估体系。

(4)通过基因工程对生防菌进行改良构建“扬长避短”的生防菌。在商业化之前还需要进一步改进生防菌剂的生产工艺、开发适当的配方、简化生防菌剂的制备技术、降低其生产成本并完善施用方式。

参考文献:

- [1] Horstmann J L, Dias M P, Ortolan F, et al. *Streptomyces* sp. CLV45 from Fabaceae rhizosphere benefits growth of soybean plants [J]. *Braz J Microbiol*, 2020, 51 (4): 1861-1871. DOI: 10.1007/s42770-020-00301-5.
- [2] Han S 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. DOI: 10.1016/j.pestbp.2021.104916.
- [3] Dave K, Gothwal R, Singh M, et al. Facets of rhizospheric microflora in biocontrol of phytopathogen *Macrophomina phaseolina* in oil crop soybean [J]. *Arch Microbiol*, 2021, 203 (2): 405-412. DOI: 10.1007/s00203-020-02046-z.
- [4] 朱文博, 韩昕儒, 问锦尚. 中国大豆生产自给的潜力, 路径与挑战 [J]. *华南师范大学学报(社会科学版)*, 2022(3): 122-135+207.
- [5] Mingma R, Pathom-Aree W, Trakulnaleamsai S, et al. Isolation of rhizospheric and roots endophytic actinomycetes from Leguminosae plant and their activities to inhibit soybean pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. *glycine* [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2014, 30 (1): 271-280. DOI: 10.1007/s11274-013-1451-9.
- [6] Oliva M D, Carezzano M E, Giuliano M, et al. Antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on phytopathogenic strains isolated from soybean [J]. *Plant Biol (Stuttg)*, 2015, 17 (3): 758-765. DOI: 10.1111/plb.12282.
- [7] 任改弟, 王光飞, 马艳. 根系分泌物与土传病害的关系研究进展 [J]. *土壤*, 2021, 53 (2): 229-235. DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2021.02.002.
- [8] 崔文会, 孙雪, 梁承宇, 等. 土传真菌病害拮抗菌的筛选及其生防效果研究 [J]. *工业微生物*, 2020, 50 (2): 41-47. DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2021.02.002.
- [9] 于维, 栾奕, 李明姝, 等. 大豆土传病害抗性资源筛选 [J]. *东北农业科学*, 2020, 45 (3): 12-15, 21. DOI:

- 10.16423/j.cnki.1003-8701.2020.03.003.
- [10] Pérez-Brandán C, Huidobro J, Grümberg B, et al. Soybean fungal soil-borne diseases: a parameter for measuring the effect of agricultural intensification on soil health [J]. Can J Microbiol, 2014, 60 (2) : 73-84. DOI: 10.1139/cjm-2013-0792.
- [11] Rodriguez M C, Sautua F, Scandiani M, et al. Current recommendations and novel strategies for sustainable management of soybean sudden death syndrome [J]. Pest Manag Sci, 2021, 77(10) : 4238-4248. DOI: 10.1002/ps.6458.
- [12] Morais E M, Silva A A R, Sousa F W A, et al. Endophytic *Trichoderma* strains isolated from forest species of the Cerrado-Caatinga ecotone are potential biocontrol agents against crop pathogenic fungi [J]. PLoS One, 2022, 17 (4) : e0265824. DOI: 10.1371/journal.pone.0265824.
- [13] Jia Y J, Huang J X, Qi L L, et al. *Bacillus subtilis* strain BS06 protects soybean roots from *Fusarium oxysporum* infection [J]. FEMS Microbiol Lett, 2021, 368 (15) : fnab102. DOI: 10.1093/femsle/fnab102.
- [14] Chacón-Orozco J G, Bueno C, Shapiro-Ilan D I, et al. Antifungal activity of *Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus* spp. against the soybean pathogenic *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Scientific Reports, 2020, 10: 20649. DOI: 10.1038/s41598-020-77472-6.
- [15] 李兴龙, 李彦忠. 土传病害生物防治研究进展 [J]. 草业学报, 2015, 24 (3) : 204-212. DOI: 10.11686/cyxb20150321.
- [16] Souto G I, Correa O S, Montecchia M S, et al. Genetic and functional characterization of a *Bacillus* sp. strain excreting surfactin and antifungal metabolites partially identified as iturin-like compounds [J]. J Appl Microbiol, 2004, 97 (6) : 1247-1256. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2004.02408.x.
- [17] 叶文武, 郑小波, 王源超. 大豆根腐病监测与防控关键技术研究进展 [J]. 大豆科学, 2020, 39 (5) : 804-809.
- [18] Zhang F L, Chen C, Zhang F, et al. *Trichoderma harzianum* containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase and chitinase improved growth and diminished adverse effect caused by *Fusarium oxysporum* in soybean [J]. Journal of Plant Physiology, 2017, 210: 84-94. DOI: 10.1016/j.jplph.2016.10.012.
- [19] 成榕, 董铮, 李魏, 等. 大豆根腐病研究进展 [J]. 中国农学通报, 2016, 32(8): 58-62.
- [20] 李维江. 浅析大豆根腐病的病因与防治措施 [J]. 农民致富之友, 2018(17): 146.
- [21] Castaldi S, Petrillo C, Donadio G, et al. Plant growth promotion function of *Bacillus* sp. strains isolated from salt-pan rhizosphere and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(7) : 3324. DOI: 10.3390/ijms22073324.
- [22] 吕国忠, 刘伟成, 白金铠. 大豆炭腐病 (*Macrophomina phaseolina*) 在东北地区发生初报 [J]. 大豆科学, 1991 (1): 82.
- [23] Chauhan P, Bhattacharya A, Giri V P, et al. *Bacillus subtilis* suppresses the charcoal rot disease by inducing defence responses and physiological attributes in soybean [J]. Arch Microbiol, 2022, 204 (5) : 266. DOI: 10.1007/s00203-022-02876-z.
- [24] Marquez N, Giachero M L, Declerck S, et al. *Macrophomina phaseolina*: general characteristics of pathogenicity and methods of control [J]. Front Plant Sci, 2021, 12: 634397. DOI: 10.3389/fpls.2021.634397.
- [25] Liu D L, Yan R, Fu Y S, et al. Antifungal, plant growth-promoting, and genomic properties of an endophytic actinobacterium *Streptomyces* sp. NEAU-S7GS2 [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 2077. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02077.
- [26] Zhu G Y, Shi X C, Wang S Y, et al. Antifungal mechanism and efficacy of kojic acid for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean [J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 845698. DOI: 10.3389/fpls.2022.845698.
- [27] 杨森岭, 张维, 韦秋合, 等. 大豆菌核病研究进展 [J]. 中国农学通报, 2021, 37(27): 90-99.
- [28] Troian R F, Steindorff A S, Ramada M H S, et al. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum*: evaluation of antagonism and expression of cell wall-degrading enzymes genes [J]. Biotechnol Lett, 2014, 36(10): 2095-2101. DOI: 10.1007/s10529-014-1583-5.
- [29] Zhang J X, Xue A G. Biocontrol of *Sclerotinia* stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of soybean using novel *Bacillus subtilis* strain SB24 under control conditions [J]. Plant Pathology, 2010, 59 (2) : 382-391. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2009.02227.x.
- [30] 孟凡立, 于瑾瑶, 李春杰, 等. 东北地区大豆孢囊线虫病发生和防控技术研究进展 [J]. 东北农业大学学报, 2022, 53 (1) : 87-94. DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2022.01.010.
- [31] Liu D, Chen L, Zhu X F, et al. *Klebsiella pneumoniae* SnebYK mediates resistance against *Heterodera glycines* and promotes soybean growth [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1134. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01134.
- [32] Pawlowski M L, Hartman G L. Impact of arbuscular mycorrhizal species on *Heterodera glycines* [J]. Plant Dis, 2020, 104 (9) : 2406-2410. DOI: 10.1094/PDIS-01-

- 20-0102-RE.
- [33] 李世东, 缪作清, 高卫东. 我国农林园艺作物土传病害发生和防治现状及对策分析[J]. 中国生物防治学报, 2011, 27(4): 433-440. DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2011.04.004.
- [34] Afzal I, Shinwari Z K, Sikandar S, et al. Plant beneficial endophytic bacteria: mechanisms, diversity, host range and genetic determinants [J]. Microbiol Res, 2019, 221: 36-49. DOI:10.1016/j.micres.2019.02.001.
- [35] Pylro V S, Dias A C F, Andreote F D, et al. Closed genome sequence of phytopathogen biocontrol agent *Bacillus velezensis* strain AGVL-005, isolated from soybean [J]. Genome Announc, 2018, 6(7): e00057-e00018. DOI:10.1128/genomea.00057-18.
- [36] Han X S, Shen D X, Xiong Q, et al. The plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus velezensis* FZB42 controls the soybean pathogen *Phytophthora sojae* due to bacilysin production[J]. Appl Environ Microbiol, 2021, 87(23): e0160121. DOI:10.1128/AEM.01601-21.
- [37] Wagner A, Norris S, Chatterjee P, et al. Aquatic pseudomonads inhibit oomycete plant pathogens of *Glycine max*[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1007. DOI:10.3389/fmicb.2018.01007.
- [38] Zhao L F, Xu Y J, Lai X H. Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Glycine max* L.) and plant growth-promoting properties[J]. Brazilian J Microbiol, 2018, 49(2): 269-278. DOI: 10.1016/j.bjm.2017.06.007.
- [39] Zhang F, Ge H, Zhang F, et al. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 100: 64-74. DOI: 10.1016/j.plaphy.2015.12.017.
- [40] Alvarez F, Castro M, Príncipe A, et al. The plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP2 18 and ARP2 3 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of sclerotinia stem rot disease[J]. Appl Microbiol, 2012, 112(1): 159-174. DOI:10.1111/j.1365-2672.2011.05182.x.
- [41] Liu C X, Zhuang X X, Yu Z Y, et al. Community structures and antifungal activity of root-associated endophytic Actinobacteria of healthy and diseased soybean [J]. Microorganisms, 2019, 7(8): 243. DOI:10.3390/microorganisms7080243.
- [42] Simonetti E, Pin Viso N, Montecchia M, et al. Evaluation of native bacteria and manganese phosphite for alternative control of charcoal root rot of soybean[J]. Microb Res, 2015, 180: 40-48. DOI: 10.1016/j.micres.2015.07.004.
- [43] Castaldi S, Masi M, Sautua F, et al. *Pseudomonas fluorescens* showing antifungal activity against *Macrophomina phaseolina*, a severe pathogenic fungus of soybean, produces phenazine as the main active metabolite[J]. Biomolecules, 2021, 11(11): 1728. DOI: 10.3390/biom11111728.
- [44] Sarli D A, Sánchez L A, Delgado O D. *Burkholderia gladioli* MB39 an Antarctic strain as a biocontrol agent [J]. Curr Microbiol, 2021, 78(6): 2332-2344. DOI: 10.1007/s00284-021-02492-y.
- [45] 杨萍, 杨谦. 木霉重寄生过程分子机制的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(27): 163-166. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6850.2012.27.032.
- [46] Fira D, Dimkić I, Berić T, et al. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species [J]. Biotechnol, 2018, 285: 44-55. DOI:10.1016/j.jbiotec.2018.07.044.
- [47] Sallam N, Ali E F, Seleim M A A, et al. Endophytic fungi associated with soybean plants and their antagonistic activity against *Rhizoctonia solani*[J]. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2021, 31(1): 1-9. DOI: 10.1186/s41938-021-00402-9.
- [48] Zhang Y J, Herrera-Balandrano D D, Shi X C, et al. Biocontrol of *Colletotrichum brevisporum* in soybean using a new genistein-producing *Paecilomyces* strain [J]. Biol Contr, 2022, 169. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2022.104877.
- [49] Haarith D, Kim D G, Strom N B, et al. *In vitro* screening of a culturable soybean cyst nematode cyst microbiome for potential biological control agents and biopesticides[J]. Phytopathology, 2020, 110(8): 1388-1397. DOI:10.1094/PHYTO-01-20-0015-R.
- [50] 郑向, 段左平, 张杰, 等. 大豆疫霉菌效应子研究进展[J]. 生物技术通报, 2022, 38(11): 10-20. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2022-0097.
- [51] 邹佳迅, 范晓旭, 宋福强. 木霉(*Trichoderma* spp.)对植物土传病害生防机制的研究进展[J]. 大豆科学, 2017, 36(6): 970-977.
- [52] 张吉清, 崔友林, 段灿星, 等. 大豆炭腐病原菌鉴定[J]. 华北农学报, 2009, 24(5): 192-196. DOI: 10.7668/hbnxb.2009.05.040.
- [53] Yang M L, Han X Q, Xie J B, et al. Field application of wuyiencin against *Sclerotinia* stem rot in soybean [J]. Front Sustain Food Syst, 2022, 6: 930079. DOI: 10.3389/fsufs.2022.930079.
- [54] 华萃. 大豆孢囊线虫致病性变异及趋化性研究[D]. 哈尔滨: 中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所), 2018.
- [55] Verhagen B W M, Glazebrook J, Zhu T, et al. The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance

- in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2004, 17 (8): 895–908. DOI: 10.1094/MPMI.2004.17.8.895.
- [56] Zhao J, Liu D, Wang Y Y, et al. Biocontrol potential of *Microbacterium maritimum* Sneb159 against *Heterodera glycines* [J]. *Pest Manag Sci*, 2019, 75 (12): 3381–3391. DOI: 10.1002/ps.5546.
- [57] Xing Z F, Wu X J, Zhao J, et al. Isolation and identification of induced systemic resistance determinants from *Bacillus simplex* Sneb545 against *Heterodera glycines* [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 11586. DOI: 10.1038/s41598-020-68548-4.
- [58] Zhou Y Y, Chen J S, Zhu X F, et al. Efficacy of *Bacillus megaterium* strain Sneb207 against soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) in soybean [J]. *Pest Manag Sci*, 2021, 77(1): 568–576. DOI: 10.1002/ps.6057.
- [59] Teixeira G M, Mosela M, Nicoletto M L A, et al. Genomic insights into the antifungal activity and plant growth-promoting ability in *Bacillus velezensis* CMRP 4490 [J]. *Front Microbiol*, 2021, 11: 618415. DOI: 10.3389/fmicb.2020.618415.
- [60] Haas D, Defago G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3 (4): 307–319. DOI: 10.1038/nrmicro1129.
- [61] Braun S D, Hofmann J, Wensing A, et al. Identification of the biosynthetic gene cluster for 3-methylarginine, a toxin produced by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 22d/93 [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76 (8): 2500–2508. DOI: 10.1128/AEM.00666-09.
- [62] Zhang J X, Xue A G, Tambong J T. Evaluation of seed and soil treatments with novel *Bacillus subtilis* strains for control of soybean root rot caused by *Fusarium oxysporum* and *F. graminearum* [J]. *Plant Dis*, 2009, 93(12): 1317–1323. DOI: 10.1094/pdis-93-12-1317.
- [63] 原小迪, 张思颖, 李钰, 等. 玉米病害生防菌剂研究现状[J]. *安徽农业科学*, 2022, 50(5): 1–4.
- [64] 黄慧婧, 罗坤. 芽孢杆菌与杀菌剂复配防治植物病害的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(3): 938–947. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.200444.
- [65] Murphy B R, Doohan F M, Hodkinson T R. From concept to commerce: developing a successful fungal endophyte inoculant for agricultural crops [J]. *J Fungi: Basel*, 2018, 4(1): E24. DOI: 10.3390/jof4010024.
- [66] Senthilkumar M, Govindasamy V, Annapurna K. Role of antibiosis in suppression of charcoal rot disease by soybean endophyte *Paenibacillus* sp. HKA-15 [J]. *Current Microbiology*, 2007, 55 (1): 25–29. DOI: 10.1007/s00284-006-0500-0.
- [67] Chang K F, Hwang S F, Conner R L, et al. First report of *Fusarium proliferatum* causing root rot in soybean (*Glycine max* L.) in Canada [J]. *Crop Protect*, 2015, 67: 52–58. DOI: 10.1016/j.cropro.2014.09.020.
- [68] Fernandes M F R, Ribeiro T G, Rouws J R, et al. Biotechnological potential of bacteria from Genera *Bacillus* *Paraburkholderia* and *Pseudomonas* to control seed fungal pathogens [J]. *Braz J Microbiol*, 2021, 52(2): 705–714. DOI: 10.1007/s42770-021-00448-9.
- [69] 许艳丽, 张红骥, 张匀华, 等. 复配生防菌株防治大豆根腐病的研究[J]. *大豆科学*, 2008, (2): 270–274.
- [70] 王卫雄, 沈博, 贾洪柏, 等. 根际生防菌群的应用及其防病增效的潜在机制[J]. *生物技术通报*, 2020, 36 (9): 31–41. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2020-0994.

(责任编辑:郭学兰)