



环链虫草 *Cordyceps cateniannulata* 对番茄生长和抗氧化酶活性的影响

管景强¹, 许忠顺¹, 刘京², 苟剑渝², 邹晓^{1*}

1 贵州大学生命科学学院生态系真菌资源研究所, 贵州 贵阳 550025

2 贵州省烟草公司遵义市公司, 贵州 遵义 563000

管景强, 许忠顺, 刘京, 苟剑渝, 邹晓. 环链虫草 *Cordyceps cateniannulata* 对番茄生长和抗氧化酶活性的影响. 微生物学报, 2022, 62(3): 1119–1130.

Guan Jingqiang, Xu Zhongshun, Liu Jing, Gou Jianyu, Zou Xiao. Effect of *Cordyceps cateniannulata* on the growth and antioxidant enzyme activity of *Solanum lycopersicum*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(3): 1119–1130.

摘要:【目的】评估环链虫草 *Cordyceps cateniannulata* 对植物促生和植物抗氧化酶活性的影响。

【方法】本研究利用浸种法将环链虫草接种于番茄植物体, 在接种后的第 30 天和 60 天, 通过番茄株高、根长、地上和地下部分的干鲜重指标评价其对番茄生长的影响; 在接种后第 10、20、30、60 和 90 天, 通过选择性培养基分析其在番茄不同组织中的生存情况, 使用形态学及 DNA 序列比对的方法检验所分离菌株与原有菌株的一致性。在处理后的第 30 天, 检测番茄叶片中的过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)含量, 观察环链虫草对番茄的抗氧化酶活性影响。【结果】环链虫草可定殖于番茄幼苗且对番茄生长有显著促进作用, 菌株对植株的定殖偏好性分别为根部>茎部>叶部。酶活检测结果表明, 处理组番茄叶片防御酶活性均呈显著升高的趋势, 其中 POD、CAT、SOD 活性分别比对照增加了 52.21%、75.31%和 158.59%, MDA 含量下降了 35.15%。【结论】环链虫草可以通过浸种的方法感染并定殖番茄幼苗的根、茎、叶, 促进番茄幼苗的生长并提高番茄抗氧化酶活性, 具有较好的田间生态应用潜力。

关键词: 番茄; 环链虫草; 促生作用; 抗氧化酶活性

基金项目: 贵州省烟草公司遵义市公司科技项目(2018-02); 大学生“SRT 计划”项目(贵大 SRT 字[2019]356 号)

Supported by the Science and Technology Project of Zunyi Tobacco Company (2018-02) and by the Student Research Training project (Guizhou University [2019] 356)

*Corresponding author. E-mail: xzou@gzu.edu.cn

Received: 8 July 2021; Revised: 22 September 2021; Published online: 29 September 2021

Effect of *Cordyceps cateniannulata* on the growth and antioxidant enzyme activity of *Solanum lycopersicum*

GUAN Jingqiang¹, XU Zhongshun¹, LIU Jing², GOU Jianyu², ZOU Xiao^{1*}

¹ Institute of Fungus Resources, Department of Ecology, College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

² Zunyi Branch, Guizhou Tobacco Company, Zunyi 563000, Guizhou, China

Abstract: [Objective] This paper aims to evaluate the effect of *Cordyceps cateniannulata* on the growth and antioxidant enzyme activity of *Solanum lycopersicum*. [Methods] With the seed soaking method, *S. lycopersicum* was inoculated with *C. cateniannulata*. The plant height, root length, fresh and dry weight of root, and fresh and dry weight of shoot of *S. lycopersicum* were measured 30 and 60 days post inoculation (dpi) to assess the influence of the fungus on plant growth. Endophytic colonization of different plant parts by the tested fungus was confirmed 10, 20, 30, 60 and 90 dpi via a selective medium. Through morphological identification and DNA sequence alignment, we tested whether the endophytes isolated from *S. lycopersicum* were the inoculated strains. The content of peroxidase (POD), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) in *S. lycopersicum* leaves was determined 30 dpi in a bid to evaluate the effect on antioxidant enzyme activity. [Results] *C. cateniannulata* colonized *S. lycopersicum* seedlings and promoted the plant growth. At all the five sampling time points, the colonization rate was in the order of root>stem>leaf. *C. cateniannulata* significantly increased the activity of defense enzymes in *S. lycopersicum* leaves, as the activity of POD, CAT, and SOD was respectively 52.21%, 75.31%, and 158.59% higher than that of the control and MDA content was 35.15% down from the control. [Conclusion] Through seed inoculation, *C. cateniannulata* colonizes in roots, stems, and leaves of *S. lycopersicum*, promoting the seedling growth and enhancing the antioxidant enzyme activity. Thus, this fungus has good application prospects in field.

Keywords: *Solanum lycopersicum*; *Cordyceps cateniannulata*; growth promotion; antioxidant enzyme activity

番茄(*Solanum lycopersicum*)是茄科(*Solanaceae*)重要经济作物,其脂肪含量低,具有较高的膳食纤维、矿物质、维生素和抗氧化物质,是世界种植最多的蔬菜之一^[1-2]。统计显示,我国番茄种植面积和番茄酱生产量已跃居世界第二,总种植面积已接近 20 万公顷^[3]。

截止 2015 年,我国化肥投入总量已超过世界平均水平的 3 倍,化肥的大量施用已使得土壤盐碱化、板结等现象日趋严重。尤其是对于

化肥需求量大、病虫害严重的番茄而言,寻找并开发高效、绿色的新型生态植保技术成为产业可持续发展的重要任务。植物内生真菌是指在植物生活史中的某一个或多个阶段能够栖息于根、茎和叶等组织且不会对植物造成伤害的一类真菌,其在植物保护中发挥的作用越来越受到关注,同时也为生态共生理念在植物保护中的应用提供了基础^[4]。自然条件下某些虫生真菌可以存在于植物组织内,并且具有抑制植

物病原菌的功能^[5]。虫生真菌也能够通过叶面喷施、茎干注射、灌根、浸种和拌土等人工接种的方式定殖于豆类^[6]、玉米^[7]和咖啡^[8]等各种栽培植物,对宿主植物的生长可以产生一些积极作用。例如,人工接种虫生真菌可提高玉米幼苗生长势、地上部分生物量、叶片数及种子发芽率^[9],影响大豆植株的株高和干鲜重^[10],促进柳枝稷的根毛发育^[11];此外,人工接种虫生真菌还能够控制昆虫、螨类等节肢动物的种群数量及生长发育^[12]。

环链虫草 *Cordyceps cateniannulata* (Z.Q. Liang) Kepler, B. Shrestha & Spatafora, 其同物异名为环链棒束孢 *Isaria cateniannulata* (Liang) Samson & Hywel-Jones、环链拟青霉 *Paecilomyces cateniannulatus* (Z.Q. Liang) Samson & Hywel-Jones^[13]。该菌是一类广谱性的虫生真菌,能够对鳞翅目、半翅目、鞘翅目和蜚蠊目节肢动物害虫有较强的致死性^[14]。作为生防真菌,环链虫草可直接用于农、林业害虫防治且对生态环境影响小,拥有较为广阔的发展前景。白僵菌、绿僵菌和轮枝菌等广谱性虫生真菌具备定殖于植物体的能力,其对植物促生、植物病虫害的相关研究也被广泛报道。迄今,关于接种环链虫草影响番茄生长和抗逆性的研究鲜有报道。基于浸种法简便、易推广、可接受性强的特点,本研究通过真菌孢子悬浮液浸种的方法将该菌接种于番茄植株,以组织分离法评价其对番茄植株的定殖能力,借助番茄形态指标及抗逆性酶活变化情况分析其对番茄促生及抗逆性能力的影响,旨在为种子包衣技术的开发提供实践基础。

1 材料与方 法

1.1 环链虫草孢子悬浮液的制备

供试菌株: *Cordyceps cateniannulata* GZUIFR04XS8, 菌株登录号为 MZ452634, 由

贵州大学真菌资源研究所(Institute of Fungus Resources, Guizhou University, GZUIFR)保存。真菌孢子悬浮液的制备:在含有 20 mL 的沙氏葡萄糖琼脂培养皿中接种环链虫草,随后将真菌置于(25±2) °C、60%–70%湿度、光照 L:D=12:12 培养 10–14 d。通过无菌刀刮取培养基表面的分生孢子,将所得的分生孢子悬浮于 0.05%的无菌 Tween-80 溶液中。用无菌擦镜纸过滤孢子悬浮液,调整悬浮液浓度至 2×10⁸ 孢子/mL 和 1×10³ 孢子/mL 备用。参照 Oliveira 等^[15]的方法将浓度为 1×10³ 孢子/mL 的孢悬液涂布至 PDA 培养基培养,24 h 后通过光学显微镜检查孢子活力,检测标准为孢子萌发率≥95%。

1.2 环链虫草真菌孢子悬浮液浸种

供试番茄种子(贵妃樱桃番茄)由华煜公司生产。参照 Akutse 等^[16]的方法对种子表面消毒:首先将大小相近的番茄种子置于 75%乙醇溶液浸泡 40 s,再使用 5%次氯酸钠溶液浸泡 40 s,最后利用无菌水冲洗种子 4 次。依照 Schulz 等^[17]的方法将最后一次冲洗种子用的液体(100 μL)涂布至新的 PDA 培养基中,以此检测种子表面灭菌效果。

实验组按一定的方法将表面灭菌的种子与 20 mL 浓度为 2×10⁸ 孢子/mL 的分生孢子悬浮液混合。本实验设置 2 个对照组,对照组 1 和对照组 2 的浸种溶液分别为 0.05%无菌 Tween-80 溶液和无菌水。实验组和对照组的种子均置于 26 °C、110 r/min 摇床中光照培养 48 h。利用干燥的无菌纸擦拭浸种后的种子,随后将其置于无菌操作台中自然风干 10 min。种植所用的泥炭土经 121 °C 高温灭菌,灭菌时长 1 h,每次灭菌间隔 24 h,共 2 次灭菌。冷却后的泥炭土被分装于育苗盘(50 穴,每穴大小为 5 cm×5 cm×5 cm)。将处理后的种子点播于育苗盘中,随后将其置于

温度为 26 °C、相对湿度 70%、光照 L:D=12:12 的生长室中。

1.3 环链虫草在番茄植株内定殖动态变化

1.3.1 定殖检测

基于环链虫草对含 Cu^{2+} 培养基的耐受性, 本研究利用 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 粉末制备了选择性培养基^[18]: 葡萄糖 40 g, 蛋白胨 10 g, 水 1 000 mL, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 粉末 1 g, 双抗(硫酸链霉素和青霉素钾各 0.1 g), pH 6–7。在接种后第 10、20、30、60 和 90 天, 随机从各处理中挑选 8 株番茄苗。用流动的自来水冲洗附着在植物表面的土壤, 参考 Jaber 描述的方法^[19]对植物体表面进行消毒: 将清洗后的植株用 75% 的酒精浸泡 2 min, 5% 次氯酸钠溶液浸泡 2 min, 无菌水冲洗 3 次。为检测植物表面消毒效果, 将最后一次冲洗用的无菌水(100 μL)涂布于 PDA 平板。在无菌操作台中将每株番茄的不同部位(根、茎、叶)切分为块状, 根和茎长度为 1 cm, 叶片面积为 1 cm^2 。随机选取根、茎和叶各 7 段分别涂布于含 Cu^{2+} 的培养基中(图 1), 每处理重复 8 株番茄苗。将培养皿置于 26 °C 下暗培养 2–3 周, 每天观察并记录真菌的生长情况。当真菌菌丝从根、茎或叶的切口边缘长出时, 统计符合环链虫草菌株的定殖数量, 计算该真菌在植物体内的定殖

率。定殖率(%)计算公式为: (显示真菌生长的植物片数/所涂植物片数) $\times 100$ 。

1.3.2 真菌形态学及分子生物学鉴定

为确定从番茄组织中分离的真菌与原有菌株的一致性, 通过点接法将诱导出的真菌菌株转接于 PDA 培养基中, 在 25 ± 2 °C、光照 L:D=12:12、RH=60%–70% 的条件下培养内生真菌, 2 周后于光学显微镜下观察并描述内生真菌的生长特点。内生真菌 rDNA-ITS 序列的扩增与测序: 刮取 PDA 平板内的菌丝, 利用植物和真菌基因组试剂盒(Aidlab 生物科技有限公司)提取内生真菌 DNA。采用真菌通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-CTCCGCTTATTGATATGC-3')进行 DNA 扩增。所用 PCR 扩增体系(25 μL)为: ITS1(10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , ITS4 (10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , $2 \times \text{A8 PCR Master Mix}$ 12.5 μL , 模板 DNA 2 μL , 加 8.5 μL 的 ddH_2O 至 25 μL 。PCR 扩增条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 30 个循环; 最后, 72 °C 延伸 5 min。扩增后的产物经 1% 琼脂糖凝胶(含溴化乙锭)检测, 随后将其送至昆明擎科生物有限公司测序。从植物根、茎和叶组织内获取的内生真菌序列皆上传至 GenBank 数据库 (<http://www.ncbi.nih.gov/genbank/>)。

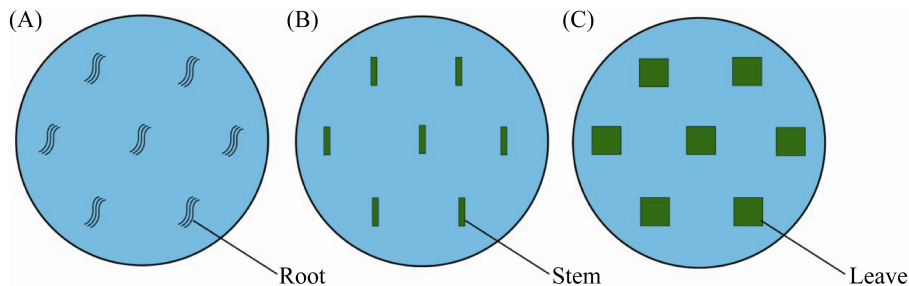


图 1 定殖检测示意图

Figure 1 Schematic diagram of the detection of endophytic strain. A: sectioned root parts were plated on PDA medium; B: sectioned stem parts were plated on PDA medium; C: segmented leaf parts were placed on PDA medium.

1.3.3 定殖环链虫草对番茄生长的影响

为测量环链虫草对番茄种子发芽率的影响, 本研究设置 3 个处理组(2×10^8 孢子/mL 孢子悬浮液浸种、0.05% Tween-80 溶液浸种、无菌水浸种), 每处理设 6 个重复, 每重复有 10 颗种子。自播种后的第 7 天, 统计种子的萌发率。为确定环链虫草菌株对植株生长的影响, 在接种菌株后的第 30 天、60 天, 随机从实验组和对照组中各抽取 10 株番茄苗用于测量生长参数。生长参数指标主要有: 株高(植株基部到最上部叶片的距离)、根长(根着生最高处与根须最顶端的距离)、地上部分干鲜重和根干鲜重。番茄株高、根长的测量利用游标卡尺完成, 地上部分鲜重和根鲜重的称量利用电子分析天平(上海菁海 FA2004N)完成。

1.4 接种环链虫草对番茄叶片酶活及丙二醛含量的影响

在出苗后的第 30 天对相同位置的最新展开叶进行取样, 每处理 5 个重复。参照 Solarbio 公司提供的试剂盒使用说明对番茄叶片中的过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)含量进行检测。

1.5 数据分析

实验数据均由 Excel 2010 和 SPSS 18.0 软件处理, 采用 ANOVA 的 LSD 方法进行显著性差异分析, 实验绘图由 OriginPro 2018C 制作。

2 结果与分析

2.1 环链虫草在番茄体内的定殖

2.1.1 真菌形态学描述

从番茄组织内(根、茎、叶)回收出 3 株内生真菌, 各内生真菌菌丝隆起、蓬松、棉絮状。在培育后的第 7 天, 菌落正面开始产孢且菌丝之间较为紧密, 菌落背面则呈现为淡黄色(图 2)。显微结构下(图 3), 各内生真菌分生孢子梗轮生,

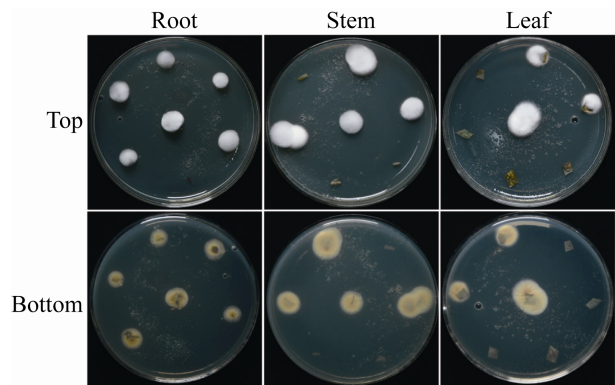


图 2 检测环链虫草对番茄的内生定殖情况(接种后第 30 天)

Figure 2 Detection of *C. cateniannulata* isolated from *S. lycopersicum* at 30 days post-inoculation (dpi). Culture plates showed the top and bottom of the colony which were isolated from root, stem and leave tissues.

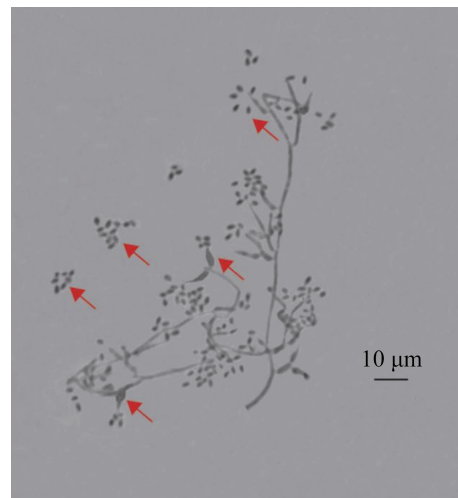


图 3 环链虫草显微形态图(40×)

Figure 3 The microscopic morphology of *C. cateniannulata* strain isolated from *S. lycopersicum* (40×). Bar=10 μm.

瓶梗基部膨大呈卵圆形, 瓶梗上方 1/2 处突向上变细; 分生孢子呈椭圆形、覆瓦状排列成环状, 这与王定锋等^[20]描述一致。

2.1.2 真菌 rDNA-ITS 序列比对

从番茄根、茎和叶组织中获得的内生菌菌

株名称分别命名为 GZUIFR20.85、GZUIFR20.86、GZUIFR20.87，菌株登录号分别为 MW819934、MW819935 和 MW819936。PCR 扩增后的各菌株序列长度分别为 527、562 和 563 bp。在 NCBI 数据库上将 GZUIFR20.85、GZUIFR20.86、GZUIFR20.87 菌株与原有菌株 GZUIFR04XS8 进行 BLAST 比对，初步比对后的基因相似性分别为 99.81%、100% 和 99.81%。参照 Brownbridge 等^[21]的比对方法将分离所得的 3 株菌株与接种所用的菌株进行序列再比对并绘制序列比对图谱。综合各序列比对及系统发育树分析结果，从番茄根、茎和叶组织内分离的菌株与接种所用的 *C. cateniannulata* GZUIFR04XS8 菌株一致。

2.2 环链虫草在番茄内的定殖变化

涂布于 PDA 培养基的冲洗水并未导致培养基表面产生任何杂菌，这表明种子消毒和植物表面灭菌的方法是有效的。定殖检测结果表明环链虫草能够在番茄植株的根、茎、叶组织内系统定殖(图 2，图 4)。整体而言，环链虫草在番茄植株内的定殖率会受到时间和不同植物组织的影响。从接种后第 10 天起，环链虫草在植物中的定殖率一直呈现下降趋势，至接种后第 90 天菌株在根(8.93%)、茎(5.36%)和叶组织(0%)内的定殖率达最低状态。在接种后第 10 天、20 天、30 天，根和茎组织的菌株定殖率皆显著高于叶组织($P < 0.05$)；在接种后第 60 天和 90 天，根、茎和叶组织的菌株定殖率无显著性差异($P > 0.05$)。综合 5 个检测时期的定殖率结果可知，环链虫草在番茄组织中存在一定的定殖偏好性，即根部>茎部>叶片。

2.3 环链虫草对番茄生长发育的影响

实验结果表明，在播种后的第 7 天，分生孢子悬浮液浸种处理后的种子发芽率显著高于对照组的发芽率($F = 6.904 0$; $df = 2, 15$; $P = 0.007 5$)

(图 5)。从植物形态变化可以初步判断，在接种环链虫草的第 60 天，实验组和对照组在植株高度及根长方面都优于对照处理组(图 6)。

通过对实验组和对照组的生长参数分析(图 7)，接种环链虫草能够显著促进番茄植株的

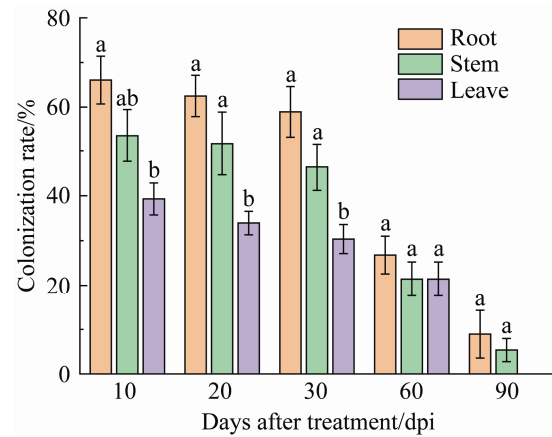


图 4 环链虫草在番茄不同部位的定殖率

Figure 4 Mean percentage colonization of different plant parts by *C. cateniannulata*. Means (\pm SE) capped with different letters differ significantly among different plant tissues within each sampling dates (LSD test, $P < 0.05$).

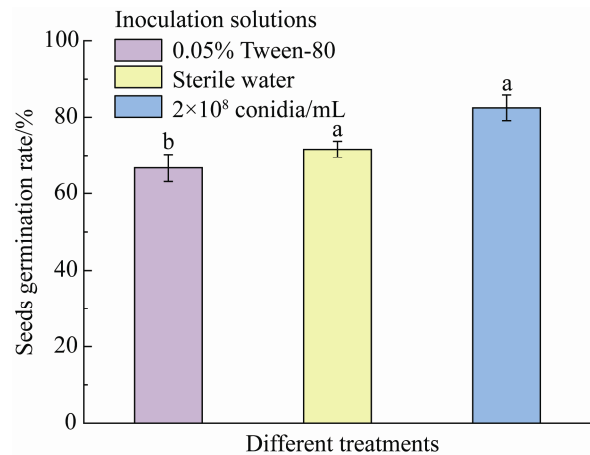


图 5 番茄种子在第 7 天的发芽率

Figure 5 The seeds germination rate of tomato at 7 days post-inoculation (dpi). Means (\pm SE) capped with the different letters indicate significant among different treatments (LSD test, $P < 0.05$).



图 6 环链虫草对番茄的促生作用(接种后第 60 天)

Figure 6 Effect of *C. cateniannulata* on growth promotion of *S. lycopersicum* at 60 days post-inoculation (dpi). Macroscopic pictures of tomato plants after inoculations of fungal (2×10^8 conidia/mL) or control suspensions. A: 0.05% Tween-80 (control); B: *C. cateniannulata*. Bar=8 cm.

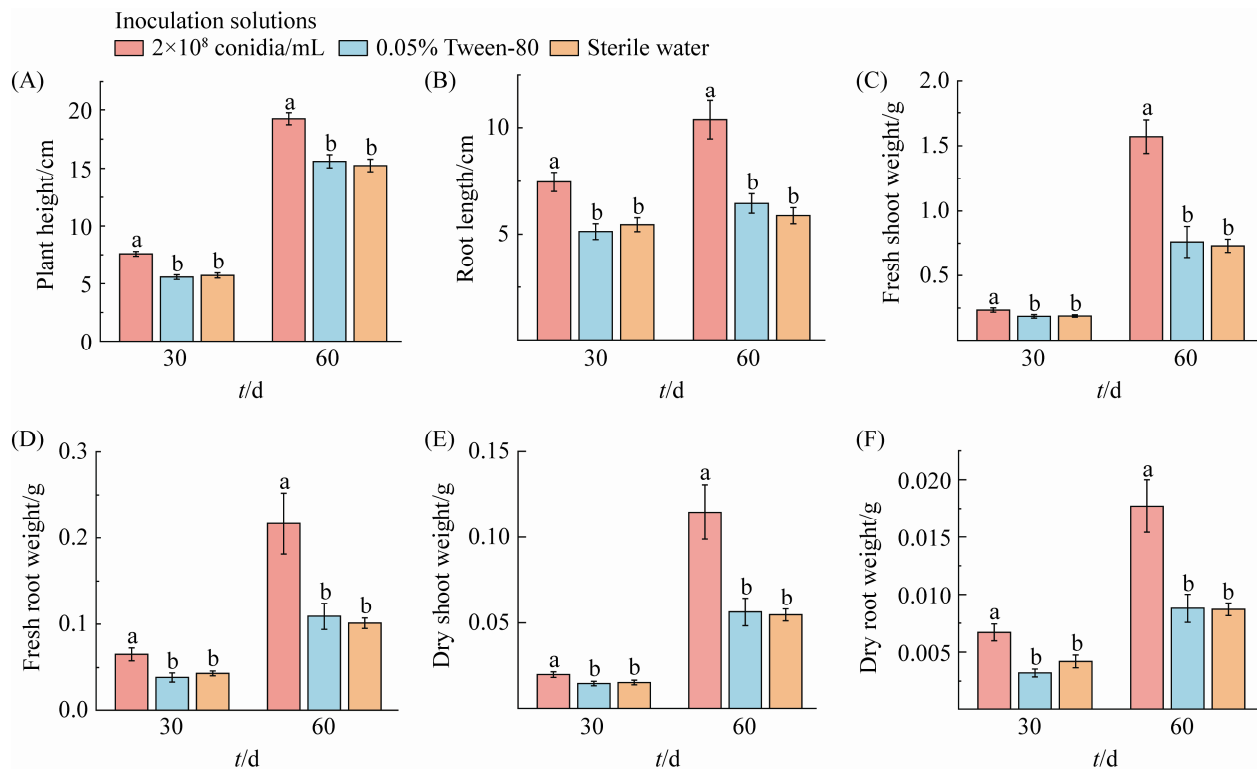


图 7 环链虫草对番茄株高、根长、地上部分干鲜重和地下部分干鲜重的影响(接种后第 30 天和 60 天)

Figure 7 The effects of seed inoculation with entomopathogenic fungus *C. cateniannulata* on mean (\pm SE) plant height (A), root length (B), fresh shoot (C) and fresh root weight (D), dry shoot (E) and dry root weight (F) of *S. lycopersicum* at 30 and 60 days post-inoculation (dpi). Means (\pm SE) capped with different lowercase letters differ significantly among different treatments within each sampling dates (LSD test, $P < 0.05$).

生长。在接种后的第 30 天, 定殖于番茄内的环链虫草显著地影响了植株株高($F=28.71$; $df=2, 27$; $P<0.000 1$)、根长($F=10.674$; $df=2, 27$; $P=0.004$)、地上部分鲜重($F=4.071$; $df=2, 27$; $P=0.004$)、根鲜重($F=4.071$; $df=2, 27$; $P=0.028 5$)、地上部分干重($F=3.812$; $df=2, 27$; $P=0.034 8$)和根干重($F=9.983$; $df=2, 27$; $P=0.000 6$); 同样, 在接种后的第 60 天, 实验组和对照组中的植株高度($F=16.702$; $df=2, 27$; $P<0.000 1$)、根长($F=16.702$; $df=2, 27$; $P<0.000 1$)、地上部分鲜重($F=20.452$; $df=2, 27$; $P<0.000 1$)、地下部分鲜重($F=8.24$; $df=2, 27$; $P<0.001 6$)、地上部分干重($F=10.608$; $df=2, 27$; $P=0.000 4$)和根干

重($F=11.302$; $df=2, 27$; $P=0.000 3$)也有较为明显的差异。

2.4 环链虫草对番茄叶片酶活及丙二醛含量的影响

本次实验结果显示, 接种环链虫草可有效提高番茄各类抗性相关酶活力。相比于对照组而言, 菌株处理组的叶片 POD、CAT 和 SOD 活性分别增加了 52.21% (图 8A)、75.31% (图 8B)和 158.59% (图 8C)。其中, 以 SOD 抗氧化活性酶增长率最高, 接种环链虫草对番茄叶片中 SOD 酶活性影响最大。从图 8D 可知, 环链虫草处理组的番茄叶片 MDA 含量比对照组降低了 35.15%, 两者之间差异显著($F=10.573 0$; $df=1, 8$; $P=0.011 7$)。

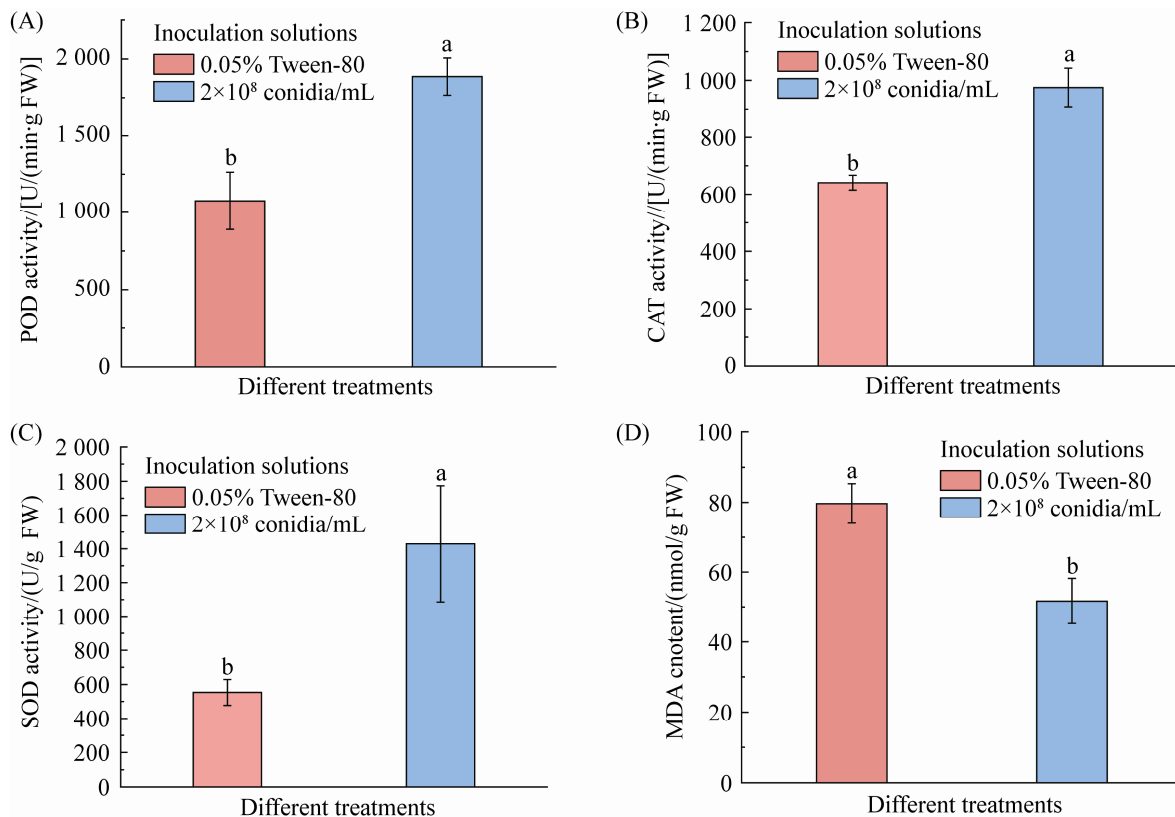


图 8 环链虫草对番茄叶片抗氧化酶活性的影响

Figure 8 The effect of seed inoculation by *C. cateniannulata* on antioxidant enzyme activity in the leaves of *S. lycopersicum* at 30 days post-inoculation (dpi). A: POD enzyme activity; B: CAT enzyme activity; C: SOD enzyme activity; D: MDA content. Bars with different letters across treatments differ significantly at $P<0.05$ (LSD test).

3 讨论与结论

3.1 番茄幼苗形态对环链虫草的响应

虫生真菌促进植物生长的现象已有大量研究^[22-23]。Qayyum 等^[24]测定了 3 株白僵菌对番茄生长的影响, 其研究表明 2 株白僵菌都显现出促进番茄生长的功效, 仅有一株白僵菌表现出减少地上部分干重和果实重量的副作用; Dash 等^[25]通过浸种法将白僵菌、玫烟色棒束孢(现学名为 *Cordyceps fumosorosea*)、轮枝菌属真菌定殖至大豆植株, 结果显示这些虫生真菌均提高了大豆植株的株高和地上、地下部分的干鲜重; Qin 等^[26]通过浸种的方式发现定殖白僵菌能够对烟草幼苗的株高、光合速率、气孔大小及表面腺毛产生显著性的影响。目前, 虫生真菌促进植物生长的机制仍缺乏一致的定论, Qin 等^[26]认为虫生真菌在植物体内定殖后可能会影响生长素、吲哚乙酸、赤霉素等其它生物活性物质的产生, 这些物质对于提升植物株高、叶绿素含量和生物量的积累有重要作用。观点相同的研究有, Liao 等^[27]首次发现绿僵菌能够通过产生吲哚乙酸(3-indoleacetic acid, IAA)来促进植物生长。Tall 等^[28]提出, 除了生长激素的影响因素外, 虫生真菌促进植物生长的生态功能可能为促进土壤中 N、P、Fe 等营养元素的溶解性, 从而提高植物对 N、P、Fe 等元素的吸收。本研究与 García 等^[29]的研究结果很相似, 即人工接种绿僵菌显著提高番茄幼苗的发芽率、株高、根长、地上部分干鲜重、地下部分干鲜重。环链虫草促进番茄生长的结果说明, 在长期的进化过程中, *Cordyceps* 属的某些菌株可能还保留了与植物内共生的特性^[30], 目前从番茄外观形态来看植物在与环链虫草互作的过程中是获利的。

3.2 环链虫草在番茄内的定殖变化

实验结果表明, 环链虫草能够在番茄的根、茎和叶组织内系统定殖, 且随着时间的推移, 该菌株在植物体内的宿存动态呈现出下降的趋势, 这与 Sánchez-Rodríguez 等^[31]的研究结果相一致。Vega 等^[12]曾对此做出推测, 虫生真菌定殖率下降的原因可能与植物营养条件、pH、光周期、植物自身的应激反应有关。除了促进植物的生长外, 虫生真菌定殖后可通过调控植物代谢产物或虫体取食的方式影响节肢动物害虫的生理及发育^[32]。因此, 研究虫生真菌在植物体内的宿存动态可能对于虫生真菌与植物的互作机制有重要的作用, 但真菌的宿存能力强弱与真菌-植物-害虫之间的相互作用机制了解还不够深入, 该过程似乎由植物控制。

环链虫草对番茄不同组织存在一定的定殖差异, 即根组织定殖率>茎组织定殖率>叶组织定殖率。费泓强等^[9]研究结果显示, 白僵菌更偏向于定殖于玉米的茎部组织和叶组织, 而根组织中却未检测到白僵菌。同一菌株对相同植株的不同组织部位存在一定的定殖差异性, Bernstein 等^[33]针对此类现象提出了内生真菌对寄主组织存在专一性的假说, 该假设至今没有明确的定论, 但研究虫生真菌-植物之间的协同进化与选择适应机制是非常有价值的工作^[34]。这种现象的原因可能在于, 不同组织部位的周围环境是有差异的, 在环境条件的作用下植物各组织部位形成了特有的生理生态环境, 这进一步导致真菌在植物组织中的适应性出现了差异。此外, 生防真菌在不同组织部位的定殖率可能还受到接种部位的影响。

3.3 番茄防御性酶活对环链虫草的响应

植物体在各种环境因素的作用下会产生大量的活性氧簇(reactive oxygen species), 如若不及时清除过量活性氧, 这些物质就会导致植物

膜脂过氧化和脱脂作用,进而造成植物不可修复的代谢和结构功能障碍^[35]。研究显示,为抵御体内所产生的 O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 H_2O_2 等活性氧物质,植物会产生一套抗氧化防御机制,即通过 SOD、POD、CAT 等防御性酶消除自身体内过量的活性氧^[36]。但植物对膜脂过氧化程度的缓解能力是有限的,因此为提升植物对不利环境的系统抗性,接种微生物能在一定程度上增强植物对生物胁迫(植物病原菌)和非生物胁迫(盐碱化)的抗性^[37]。本研究发现,在接种环链虫草后番茄叶片中的 SOD、POD 和 CAT 抗性酶活出现显著性地增加,其中 SOD 抗氧化活性酶增长率最高(158.59%),这与费泓强等^[9]的研究结果相似。SOD 和 CAT 是活性氧代谢动态平衡的主要调节酶,POD 可通过合成木质素增强植物对病原菌的抗性,因此抗氧化防御性酶活的变化常常被用作指示植物抗逆性强弱;丙二醛 MDA 是一种膜脂过氧化物,其含量过高则会影响细胞的正常代谢^[38]。实验组和对照组的结果显示,接种环链虫草能够显著降低番茄叶片中的 MDA 含量,这可能与 SOD、POD 和 CAT 抗性防御酶的提升有关。我们推测,叶片中定殖的环链虫草是导致番茄抗逆性酶活变化的原因,Rodriguez 等认为定殖于植物体的内生真菌会赋予宿主植物更强的抗逆性,这种抗逆性能力的提升可能是宿主植物与内生真菌之间协同作用的结果^[39]。

参考文献

- [1] Erdinc C, Ekincialp A, Gundogdu M, Eser F, Sensoy S. Bioactive components and antioxidant capacities of different miniature tomato cultivars grown by altered fertilizer applications. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2018, 12(3): 1519–1529.
- [2] 林兴军. 不同水肥对日光温室番茄品质和抗氧化系统及土壤环境的影响. 中国科学院研究生院(教育部水土保持与生态环境研究中心)学位论文, 2011.
- [3] 刘欢, 姚拓, 李建宏, 刘婷, 张仲娟, 马懿毓. 丛枝菌根真菌对番茄生长的影响. 甘肃农业大学学报, 2017, 52(4): 75–81, 89.
Liu H, Yao T, Li JH, Liu T, Zhang ZJ, Ma CY. Effect of various arbuscular mycorrhizal fungi on growth of tomato. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2017, 52(4): 75–81, 89. (in Chinese)
- [4] Card S, Johnson L, Teasdale S, Caradus J. Deciphering endophyte behaviour: the link between endophyte biology and efficacious biological control agents. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(8): fiw114.
- [5] Ownley BH, Gwinn KD, Vega FE. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl*, 2010, 55(1): 113–128.
- [6] Gathage JW, Lagat ZO, Fiaboe KKM, Akutse KS, Ekesi S, Maniania NK. Prospects of fungal endophytes in the control of *Liriomyza* leafminer flies in common bean *Phaseolus vulgaris* under field conditions. *BioControl*, 2016, 61(6): 741–753.
- [7] Russo ML, Scorsetti AC, Vianna MF, Cabello M, Ferreri N, Pelizza S. Endophytic effects of *Beauveria bassiana* on corn (*Zea mays*) and its herbivore, *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insects*, 2019, 10(4): 110.
- [8] Posada F, Aime MC, Peterson SW, Rehner SA, Vega FE. Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Mycological Research*, 2007, 111(6): 748–757.
- [9] 费泓强, 隋丽, 朱慧, 徐文静, 陈日墨, 汪洋洲, 李启云, 王德利. 球孢白僵菌在玉米苗期的定殖及其对玉米生理生化特性的影响. 中国生物防治学报, 2016, 32(6): 721–727.
Fei HQ, Sui L, Zhu H, Xu WJ, Chen RZ, Wang YZ, Li QY, Wang DL. Colonization of *Beauveria bassiana* in maize seedlings and its effect on their physiological-biochemical characteristics. *Chinese Journal of Biological Control*, 2016, 32(6): 721–727. (in Chinese)
- [10] Jaber LR, Enkerli J. Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth? *Biocontrol Science and Technology*, 2017, 27(1): 28–41.
- [11] Sasan RK, Bidochka MJ. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. *American Journal of Botany*, 2012, 99(1): 101–107.

- [12] Vega FE. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. *Mycologia*, 2018, 110(1): 4–30.
- [13] Kepler RM, Luangsa-Ard JJ, Hywel-Jones NL, Quandt CA, Sung GH, Rehner SA, Aime MC, Henkel TW, Sanjuan T, Zare R, Chen MJ, Li ZZ, Rossman AY, Spatafora JW, Shrestha B. A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*). *IMA Fungus*, 2017, 8(2): 335–353.
- [14] 许忠顺, 薛原, 张丽, 王真娣, 曾召英, 杨茂发, 邹晓. 防治斜纹夜蛾蛹和 2 龄幼虫的棒束孢菌株筛选. *植物保护*, 2020, 46(5): 93–101.
Xu ZS, Xue Y, Zhang L, Wang ZD, Zeng ZY, Yang MF, Zou X. Screening of *Isaria* isolates for controlling the pupae and second-instar larvae of *Spodoptera litura*. *Plant Protection*, 2020, 46(5): 93–101. (in Chinese)
- [15] Oliveira DGP, Pauli G, Mascarin GM, Delalibera I. A protocol for determination of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. *Journal of Microbiological Methods*, 2015, 119: 44–52.
- [16] Akutse KS, Maniania NK, Fiaboe KKM, Van Den Berg J, Ekesi S. Endophytic colonization of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* (*Fabaceae*) by fungal pathogens and their effects on the life-history parameters of *Liriomyza huidobrensis* (*Diptera: Agromyzidae*). *Fungal Ecology*, 2013, 6(4): 293–301.
- [17] Schulz B, Guske S, Dammann U, Christine B. Endophyte-host interactions II defining symbiosis of the endophyte-host interaction. *Symbiosis*, 1998, 25(1): 213–227.
- [18] 许忠顺. 烟田表层土壤环境对环链棒束孢防控斜纹夜蛾的影响. 贵州大学硕士学位论文, 2020.
- [19] Jaber LR, Enkerli J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. *Biological Control*, 2016, 103: 187–195.
- [20] 王定锋, 杨广, 王庆森, 曾明森, 吴光远. 两株棒束孢菌的鉴定及其对茶卷叶蛾和茶小卷叶蛾的致病力. *植物保护学报*, 2014, 41(5): 531–539.
Wang DF, Yang G, Wang QS, Zeng MS, Wu GY. Identification of two *Isaria* isolates and bioassay of their pathogenicity against tea Tortrix *Homona coffearia* and smaller tea Tortrix *Adoxophyes honmai*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2014, 41(5): 531–539. (in Chinese)
- [21] Brownbridge M, Reay SD, Nelson TL, Glare TR. Persistence of *Beauveria bassiana* (*Ascomycota: Hypocreales*) as an endophyte following inoculation of radiata pine seed and seedlings. *Biological Control*, 2012, 61(3): 194–200.
- [22] Kabaluk JT, Ericsson JD. *Metarhizium anisopliae* seed treatment increases yield of field corn when applied for wireworm control. *Agronomy Journal*, 2007, 99(5): 1377–1381.
- [23] Liao XG, O'Brien TR, Fang WG, St Leger RJ. The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(16): 7089–7096.
- [24] Qayyum MA, Wakil W, Arif MJ, Sahi ST, Dunlap CA. Infection of *Helicoverpa armigera* by endophytic *Beauveria bassiana* colonizing tomato plants. *Biological Control*, 2015, 90: 200–207.
- [25] Dash CK, Bamisile BS, Keppanar R, Qasim M, Lin YW, Islam SU, Hussain M, Wang LD. Endophytic entomopathogenic fungi enhance the growth of *Phaseolus vulgaris* L. (*Fabaceae*) and negatively affect the development and reproduction of *Tetranychus urticae* Koch (*Acari: Tetranychidae*). *Microbial Pathogenesis*, 2018, 125: 385–392.
- [26] Qin X, Zhao X, Huang SS, Deng J, Li XB, Luo ZB, Zhang YJ. Pest management via endophytic colonization of tobacco seedlings by the insect fungal pathogen *Beauveria bassiana*. *Pest Management Science*, 2021, 77(4): 2007–2018.
- [27] Liao XG, Lovett B, Fang WG, St Leger RJ. *Metarhizium robertsii* produces indole-3-acetic acid, which promotes root growth in *Arabidopsis* and enhances virulence to insects. *Microbiology: Reading, England*, 2017, 163(7): 980–991.
- [28] Tall S, Meyling NV. Probiotics for plants? growth promotion by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* depends on nutrient availability. *Microbial Ecology*, 2018, 76(4): 1002–1008.
- [29] García JE, Posadas BJ, Peticari A, Lecuona RE. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin promotes growth and has endophytic activity in tomato plants. *Advances in Biological Research*, 2011, 5(1): 22–27.
- [30] Zheng P, Xia YL, Zhang SW, Wang CS. Genetics of *Cordyceps* and related fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(7): 2797–2804.
- [31] Sánchez-Rodríguez AR, Del-Campillo MC, Quesada-Moraga E. *Beauveria bassiana*: an entomopathogenic

- fungus alleviates Fe chlorosis symptoms in plants grown on calcareous substrates. *Scientia Horticulturae*, 2015, 197: 193–202.
- [32] Ahmad I, Jiménez-Gasco MDM, Luthe DS, Shakeel SN, Barbercheck ME. Endophytic *Metarhizium robertsii* promotes maize growth, suppresses insect growth, and alters plant defense gene expression. *Biological Control*, 2020, 144: 104167.
- [33] Bernstein ME, Carroll GC. Internal fungi in old-growth Douglas fir foliage. *Canadian Journal of Botany*, 1977, 55(6): 644–653.
- [34] Vega FE, Goettel MS, Blackwell M, Chandler D, Jackson MA, Keller S, Koike M, Maniania NK, Monzón A, Ownley BH, Pell JK, Rangel DEN, Roy HE. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*, 2009, 2(4): 149–159.
- [35] 孔亚丽, 朱春权, 曹小闯, 朱练峰, 金千瑜, 洪小智, 张均华. 土壤微生物介导植物抗盐性机理的研究进展. *中国农业科学*, 2021, 54(10): 2073–2083. Kong YL, Zhu CQ, Cao XC, Zhu LF, Jin QY, Hong XZ, Zhang JH. Research progress of soil microbial mechanisms in mediating plant salt resistance. *Scientia Agricultura Sinica*, 2021, 54(10): 2073–2083. (in Chinese)
- [36] Tang J, Wang SQ, Hu KD, Huang ZQ, Li YH, Han Z, Chen XY, Hu LY, Yao GF, Zhang H. Antioxidative capacity is highly associated with the storage property of tuberous roots in different sweetpotato cultivars. *Scientific Reports*, 2019, 9: 11141.
- [37] 张晓梦, 田永强, 潘晓梅, 李佳佳, 石晓玲, 张建强, 吴康莉. 2株木霉抑菌效果及其促植物生长机制. *南方农业学报*, 2020, 51(11): 2713–2721. Zhang XM, Tian YQ, Pan XM, Li JJ, Shi XL, Zhang JQ, Wu KL. Antifungal effect and plant growth promoting mechanism of two *Trichoderma* strains. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(11): 2713–2721. (in Chinese)
- [38] 台莲梅, 高俊峰, 左豫虎, 靳学慧, 张亚玲, 李海燕. 长枝木霉菌 T115D 诱导大豆叶片防御酶活性及疫病盆栽防治效果. *中国生物防治学报*, 2018, 34(6): 897–905. Tai LM, Gao JF, Zuo YH, Jin XH, Zhang YL, Li HY. Induction of defense enzymes activities in soybean and control effect of *Phytophthora* root rot in flowerpot by *Trichoderma longibrachiaum* T115D. *Chinese Journal of Biological Control*, 2018, 34(6): 897–905. (in Chinese)
- [39] Rodriguez RJ, White Jr JF, Arnold AE, Redman RS. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 2009, 182(2): 314–330.

(本文责编 张晓丽)