

# 金龟子绿僵菌对苜蓿生长的影响及对苜蓿抗蚜性的诱导作用

刘 蓉 蔡 霓 农向群\* 王广君 涂雄兵 冯士骞 张泽华

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害综合治理全国重点实验室, 北京 100193)

**摘要:** 为明确金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 在促进植物生长和提高植物抗性方面的作用, 以金龟子绿僵菌拌土种植紫花苜蓿 *Medicago sativa*, 于室内测定植株的生长参数、苜蓿斑蚜 *Therioaphis trifolii* 的取食选择性及其发育历期和繁殖力。结果表明, 金龟子绿僵菌处理后 7 d, 植株株高比对照显著增加了 0.87 cm; 处理后 14 d, 植株分枝数为 3.88 个, 根长为 54.67 mm, 均显著高于对照。株龄 14 d 的植株接入苜蓿斑蚜, 至株龄 28 d 时, 金龟子绿僵菌处理的植株株高、分枝数和根长均较对照显著增加; 同时生物量、叶绿素含量和类胡萝卜素含量也有不同程度的升高。选择性试验结果显示, 24 h 内选择并驻留在金龟子绿僵菌处理植株叶片上的苜蓿斑蚜数量较对照显著减少 28.57%。以金龟子绿僵菌处理的植株叶片饲喂苜蓿斑蚜, 1~4 龄若虫的发育均有所减缓, 各龄若虫的发育历期均较对照叶片饲喂的各龄若虫有所延长, 而成虫寿命较以对照叶片饲喂时显著缩短了 30.09%, 总生命历程显著缩短了 18.83%。表明金龟子绿僵菌促进了紫花苜蓿植株的生长, 同时增强了植株对苜蓿斑蚜的耐害性、趋避性与抗生性。

**关键词:** 金龟子绿僵菌; 促进植物生长; 诱导抗虫性; 紫花苜蓿; 苜蓿斑蚜

## Effects of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on alfalfa growth promotion and anti-aphid induction

Liu Rong Cai Ni Nong Xiangqun\* Wang Guangjun Tu Xiongbing Feng Shiqian Zhang Zehua

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection,

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract:** To determine the role of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in promoting plant growth and improving plant resistance, alfalfa (*Medicago sativa*) was planted in soil mixed with *M. anisopliae*. Several growth parameters of the alfalfa plants were measured in the laboratory, along with the feeding selectivity, development, and fecundity of the aphid *Therioaphis trifolii*. The results showed that plant height significantly increased by 0.87 cm compared to the control group after seven days of fungal treatment. After 14 days, the number of branches was 3.88 and root length was 54.67 mm, both significantly higher than in the control group. When 14-day-old plants were exposed to aphids, the branch count and root length continued to increase, significantly exceeding the control group by the time the plants were 28 days old. Meanwhile, biomass, chlorophyll, and carotenoid content also increased to varying extents. A selective test showed that the aphid numbers on alfalfa leaves treated with the fungus decreased significantly by 28.57% compared to the control group within 24 h of testing. Feeding aphids with leaves from the fungus-treated plants delayed development of the 1st to 4th instar

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-34-07B), 中国农业科学院基本科研业务费专项(Y2022GH12)

\* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: xqnong@sina.com

收稿日期: 2023-03-09

nymphs and shortened adult lifespan by 30.09%, resulting in a significantly reduced total lifespan compared to aphids in the control group. This study suggested that *M. anisopliae* promotes alfalfa growth and enhances its resistance to aphids through increased damage tolerance, antixenosis, and antibiosis.

**Key words:** *Metarhizium anisopliae*; plant growth promotion; induced insect resistance; *Medicago sativa*; *Theroaphis trifolii*

紫花苜蓿 *Medicago sativa* 是一种优质的豆科牧草, 具有营养成分高、适口性好、生产力稳定和利用年限长等优点, 还能改土肥田、蓄水保土、防风固沙, 因而受到人们的广泛关注(熊兵, 2022)。随着紫花苜蓿种植面积的不断扩大, 害虫带来的损失不容小觑。苜蓿斑蚜 *Theroaphis trifolii* 属于半翅目斑蚜科, 是为害紫花苜蓿的重要害虫之一, 严重影响其品质和产量(吴志刚等, 2013)。目前生产上主要以化学农药防治苜蓿斑蚜, 然而长期且不合理的使用化学农药使苜蓿斑蚜产生了抗药性, 防治困难。

金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 是一种昆虫病原真菌, 致病力强, 寄主范围广, 且对环境友好, 对人畜无害, 目前主要应用于害虫防治, 近年来其与昆虫及植物宿主互作关系的研究备受重视, 已成为昆虫病原真菌研发应用的新方向(农向群等, 2022)。有研究表明, 金龟子绿僵菌也是一种兼性植物内共生菌, 可将寄主昆虫的氮转移至共生植物中(Behie et al., 2012), 菌体自身也可接收植物光合作用固定的碳(Behie et al., 2017), 这种营养互换是金龟子绿僵菌与植物互惠的基础; 棕色绿僵菌 *Metarhizium brunneum* 通过叶面喷洒等方法, 可内生定殖于蚕豆 *Vicia faba* 的叶、根、茎中并促进植株生长(Jaber & Enkerli, 2016)。此外, 昆虫病原真菌可以通过增强植物的系统获得性抗性或诱导系统抗性激活植物免疫系统, 启动对多种病原体的防御机制, 如将棕色绿僵菌和球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 的分生孢子悬浮液喷洒在番茄 *Solanum lycopersicum* 叶片及根系附近的土壤中, 每周喷洒1次, 连续喷洒3周后, 可增加植株活性氧产生, 激活防御与抗性相关基因表达, 从而增强番茄对多种害虫和病原体的抗性(Gupta et al., 2022)。可见, 金龟子绿僵菌除了具有直接杀虫的作用外, 还具有促进植株生长、诱导植株抗性等更广泛的植物保护潜力。

植物在与昆虫长期共同进化的过程中形成了抵御害虫的可遗传特性, 即植物抗虫性, 包括组成抗性和诱导抗性。组成抗性指植物在遭受植食性昆虫进攻前就已存在的抗虫特性; 而诱导抗性指植物在受到某些外界因子作用如损伤、植食者取食和微生物

侵染时所表现出及时或滞后的抗虫特性, 是一种类似于免疫反应的抗性现象(Haukioja, 1991; 娄永根和程家安, 1997; Agrawal, 1998)。植物对害虫的抗性可通过形态、结构或生理生化特性等机制影响昆虫的取食、消化、生长发育和产卵或产子, 有3种表现类型, 分别为促进植株生长以提高自身抵抗虫害的能力, 即植株耐害性; 减少害虫对植株的取食偏好以减轻植株受害程度, 即排趋性; 抑制害虫生长发育和缩短害虫寿命, 即抗生性(Gao et al., 2007; Scott et al., 2022)。植物抗虫性的表现通常是几种机制互相协作的结果(朱文清, 2021)。本研究拟通过评价金龟子绿僵菌对紫花苜蓿生长、苜蓿斑蚜取食紫花苜蓿的趋向及发育的影响, 探讨金龟子绿僵菌的植物促生长作用和诱导抗虫性, 以期为深入研究绿僵菌与植物的关系以及发挥其植物保护多样化功能的应用潜力提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试菌株: 金龟子绿僵菌 Ma9-41 菌株由本实验室提供, 保存于马铃薯蔗糖酵母浸粉琼脂(potato saccharose agar yeast extract, PSAY)培养基上。参考 Feng et al.(1994)液-固两步发酵法, 将液体培养的菌丝体接种在大米培养基上, 接种量按体积质量比 1:5 完成, 于 25 ℃ 培养 14 d 获得培养物, 过筛分离后获得金龟子绿僵菌孢子粉, 经检测含量为  $1 \times 10^{10}$  孢子/g。

供试植物: 紫花苜蓿种子购自北京正道种业有限公司; 栽培基质购自品氏托普园艺(上海)有限公司, 为含草炭、蛭石、珍珠岩等成分的营养土, 灭菌后使用。

供试虫源: 苜蓿斑蚜为本实验室饲养种群, 在温度 25~27 ℃、相对湿度 80%~85%、光周期 16 L:8 D 条件下, 以在灭菌栽培基质中培养的紫花苜蓿叶片饲养繁殖。抗生性试验选择若蚜、其他试验选择成蚜供试。

培养基: PSAY 培养基成分为马铃薯煮汁 200 g、蔗糖 20 g、酵母浸出粉 5 g、琼脂 20 g, 蒸馏水定容至

1 L; 大米培养基成分为大米 20 g、植物油 5 mL、蒸馏水 200 mL。所有培养基均在 121 ℃ 灭菌 20 min。

**试剂和仪器:** 植物叶绿素含量检测试剂盒, 齐一生物科技上海有限公司; 其余试剂均为国产分析纯。PRX-350B 智能人工气候箱, 宁波赛福实验仪器有限公司; DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; VersaMax 光吸收型酶标仪, 美国 Molecular Devices 公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 金龟子绿僵菌对苜蓿植株生长的影响测定

将金龟子绿僵菌孢子粉与灭菌营养土以质量比 1:100 混合均匀, 加入无菌水使营养土含水量为 15%, 装入长、宽、高均为 7 cm 的方形盆中, 每盆 40 g, 装入后基质表面至盆上沿约 2 cm。以不加金龟子绿僵菌的基质为对照。在每盆基质表面均匀撒入 30 粒紫花苜蓿种子, 覆盖 10 g 无菌营养土于种子表面, 置于温度 25~27 ℃、相对湿度 80%~85%、光周期 16 L:8 D 的人工气候箱中培养。分别于种植后 7 d 和 14 d 使用直尺测量紫花苜蓿植株从基质表面至最长枝顶端的长度即株高, 同时记录分枝数, 并从基质中小心取出完整植株, 用游标卡尺测量其主根长度。每次检测处理与对照各 9 盆, 即 3 盆为 1 组, 重复 3 组, 每盆随机测量 20 株。此外, 取种植 14 d 的金龟子绿僵菌处理和对照的紫花苜蓿各 9 盆, 将植株逐一从贴近基质表面剪下, 置于烘箱中于 60 ℃ 烘烤 120 min 后称重, 计算单株干重; 另取种植 14 d 的金龟子绿僵菌处理和对照的紫花苜蓿各 9 盆, 间苗后保留 10 株幼苗, 培养至 28 d 时, 采集每盆植株的全部叶片, 3 盆为 1 组, 重复 3 组, 用植物叶绿素含量检测试剂盒参照说明书测定植株叶绿素和类胡萝卜素的含量。

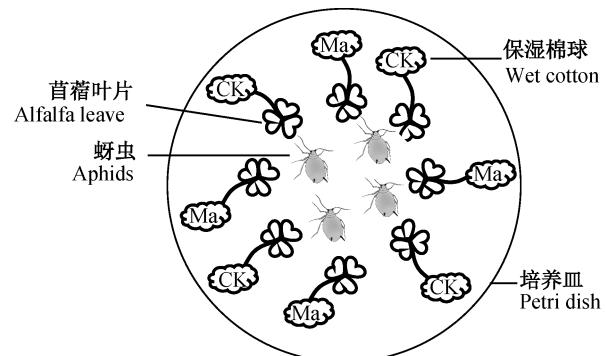
### 1.2.2 紫花苜蓿对苜蓿斑蚜的耐害性检测

采用 1.2.1 方法种植并处理紫花苜蓿, 在生长 14 d 时, 取金龟子绿僵菌处理和对照各 54 盆, 间苗后每盆保留 10 株; 将苜蓿斑蚜无翅成蚜接于植株上, 每盆接种 20 头。在接蚜后 7 d(即种植 21 d)和 14 d(即种植 28 d)检测苜蓿地上部分株高、分枝数和根长, 方法同 1.2.1, 每次检测处理和对照植株各 27 盆, 以 3 盆为 1 个检测单元随机检测 20 株, 3 个单元(9 盆)为 1 组, 重复 3 组。取种植 14 d 的金龟子绿僵菌处理和对照的紫花苜蓿各 9 盆, 间苗后每盆保留 10 株并接苜蓿斑蚜无翅成蚜, 每盆接 20 头, 在接蚜后 14 d(即种植后 28 d)检测植株干重, 方法同 1.2.1。另取种植 14 d 的金龟子绿僵菌处理和对照的

紫花苜蓿各 9 盆, 间苗后保留 10 株幼苗并接苜蓿斑蚜无翅成蚜, 每盆接 20 头, 培养至 28 d 时, 采集每盆植株的全部叶片, 3 盆为 1 组, 重复 3 组, 用植物叶绿素含量试剂盒参照说明书测定植株叶绿素和类胡萝卜素的含量。

### 1.2.3 紫花苜蓿对苜蓿斑蚜的趋性检测

采用 1.2.1 方法种植并处理紫花苜蓿, 分别取金龟子绿僵菌处理和对照的枝叶, 每枝带有 3 片叶, 分成 4 组间隔排列在直径 12 cm 的培养皿近边缘, 用脱脂棉保湿叶柄, 将 20 头苜蓿斑蚜无翅成蚜小心转接到培养皿中央, 任其自由选择叶片(图 1)。重复 10 皿。观察苜蓿斑蚜的移动趋向和取食行为, 记录 24、48 和 72 h 时每枝叶片上的苜蓿斑蚜数量, 计算处理与对照叶片上苜蓿斑蚜的数量占比。



CK: 对照植株; Ma: 金龟子绿僵菌处理植株。CK: The control plant; Ma: alfalfa treated with *Metarhizium anisopliae*.

图 1 苜蓿植株对蚜虫排趋性试验设计

Fig. 1 Experimental design for antixenosis in alfalfa plants against aphids

### 1.2.4 苜蓿植株对苜蓿斑蚜的抗生性检测

采用 1.2.1 方法种植并处理紫花苜蓿, 分别以金龟子绿僵菌处理和对照的紫花苜蓿叶片饲养苜蓿斑蚜初生若蚜, 均以单头放入 30 mL 的高 5.9 cm、直径 3.3 cm、内口径 1.9 cm 透明塑料瓶中饲养, 饲养条件为温度 25~27 ℃、相对湿度 80%~85%、光周期 16 L:8 D, 金龟子绿僵菌处理和对照各观察 50 头。每隔 12 h 记录 1 次苜蓿斑蚜若蚜的生长发育情况, 包括蜕皮次数、历期、寿命及产子量, 直至死亡, 参照 Chen et al. (2023) 方法编制生命表, 并对苜蓿斑蚜的发育历期和繁殖力进行比较, 采用配对引导测试法检测 95% 置信区间的差异显著性(Chen et al., 2020)。

## 1.3 数据分析

试验数据利用 Excel 2019 和 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 应用 Duncan 氏新复极差法和最小显著差数(least significant difference, LSD)法进行差异显

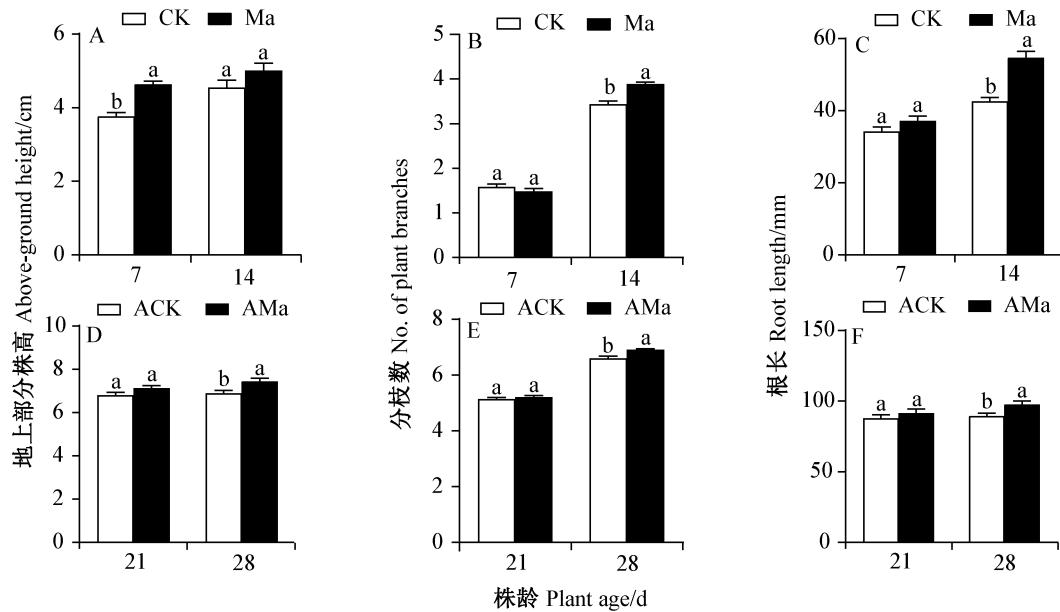
著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 金龟子绿僵菌对紫花苜蓿生长的影响

相较于对照,金龟子绿僵菌处理的紫花苜蓿株高、分枝数和根长均表现出明显的生长优势。在播种后第7天时,金龟子绿僵菌处理植株的株高为

4.63 cm,比对照株高显著增加了0.87 cm( $P<0.05$ ),分枝数和根长暂时无显著差异;而生长至第14天时,金龟子绿僵菌处理植株的株高、分枝数和根长分别为5.00 cm、3.88个和54.67 mm,株高与对照植株株高(4.55 cm)无显著差异,而分枝数和根长均显著高于对照(分枝数为3.43个,根长为42.59 mm)( $P<0.05$ ;图2-A~C)。



CK: 对照植株; Ma: 金龟子绿僵菌处理植株; ACK: 接有蚜虫的对照植株; AMA: 接有蚜虫的金龟子绿僵菌处理植株。CK: The control plant; Ma: alfalfa treated with *M. anisopliae*; ACK: the control plant inoculated with aphids; AMA: the plant treated with *M. anisopliae* and inoculated with aphids.

图2 金龟子绿僵菌和苜蓿斑蚜处理对苜蓿株高、分枝数和根长的影响

Fig. 2 Effects of *Metarhizium anisopliae* and *Theroaphis trifolii* treatment on alfalfa plant height, branch number, and root length

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示经LSD法检验同龄植株在不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments for plants of the same age by LSD test ( $P<0.05$ )。

金龟子绿僵菌处理植株在播种14 d时的单株干重为15 mg,比对照增加1 mg,两者差异不显著(图3);在生长28 d时植株的叶绿素a含量、叶绿素b含量、叶绿素总含量和类胡萝卜素含量较对照植株分别提高了27.11%、10.27%、21.16%和18.77%,其中只有叶绿素a含量较对照显著升高( $P<0.05$ ;图4)。

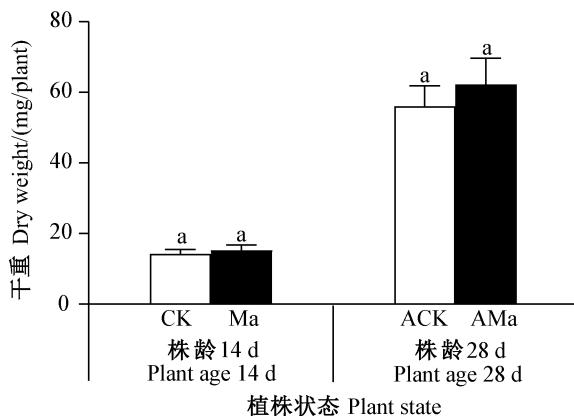
### 2.2 金龟子绿僵菌对苜蓿耐害性的影响

在株龄14 d的紫花苜蓿植株上接苜蓿斑蚜无翅成蚜后,金龟子绿僵菌处理的植株仍保持一定的生长优势。接虫后7 d时(株龄21 d),金龟子绿僵菌处理的植株与对照在株高、分枝数和根长上无显著差异,但在接虫后14 d时(株龄28 d),金龟子绿僵菌处理的植株株高为7.43 cm,分枝数为4.27个,根长为97.50 mm,三者均显著高于对照( $P<0.05$ ;图2-

D~F)。

在紫花苜蓿接苜蓿斑蚜后2周即株龄28 d时,金龟子绿僵菌处理的植株干重为62 mg,与对照植株的干重无显著差异;但比接蚜之前的植株干重增加了3.10倍,而对照植株干重较接蚜之前的植株干重仅增加了2.96倍,表明金龟子绿僵菌处理植株与对照植株在接蚜后的干重增加量无明显差异(图3)。对于株龄14 d时接入苜蓿斑蚜的植株,在接蚜后2周即株龄28 d时,叶绿素a含量、叶绿素b含量、叶绿素总含量和类胡萝卜素含量均较对照植株有所升高,但差异均不显著;另外,无论是金龟子绿僵菌处理植株还是对照植株,接蚜后的叶绿素a含量、叶绿素总含量和类胡萝卜素含量均较接蚜前显著降低( $P<0.05$ ),且接蚜致使金龟子绿僵菌处理植株与对

照植株间的差异消失;而叶绿素b含量仅在金龟子处理植株接蚜后较接蚜前显著降低,对照植株的叶绿素b含量在接蚜前后无显著变化(图4)。



CK: 对照植株; Ma: 金龟子绿僵菌处理植株; ACK: 接有蚜虫的对照植株; AMA: 接有蚜虫的金龟子绿僵菌处理植株。  
CK: The control plant; Ma: alfalfa treated with *M. anisopliae*; ACK: the control plant inoculated with aphids; AMA: the plant with treated *M. anisopliae* and inoculated with aphids.

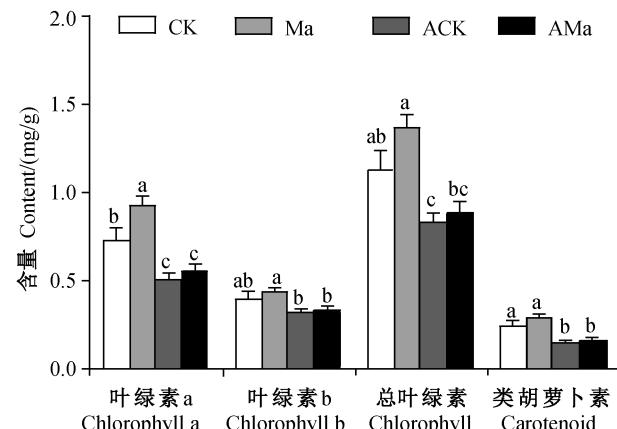
图3 金龟子绿僵菌和苜蓿斑蚜处理对苜蓿生物量的影响  
Fig. 3 Effects of *Metarhizium anisopliae* and *Theroaphis trifolii* treatment on alfalfa biomass

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示经 LSD 法检验同龄植株在不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments for plants of the same age by LSD test ( $P<0.05$ )。

### 2.3 金龟子绿僵菌处理对苜蓿植株排趋性的影响

苜蓿斑蚜对金龟子绿僵菌处理叶片和对照叶片的选择性试验显示,苜蓿斑蚜在 24 h 时选择并驻留在处理组叶片上的数量占总接蚜数的 37.50%,比选

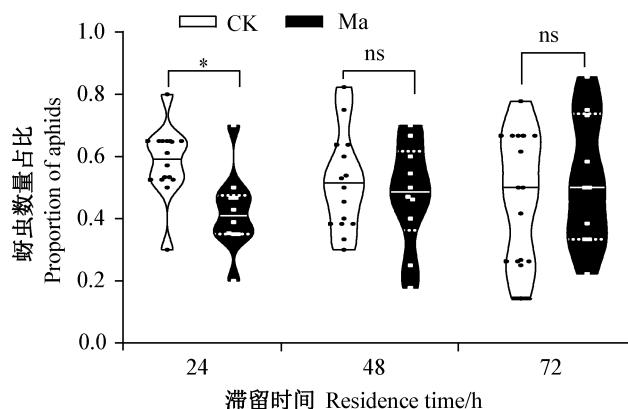
择并驻留在对照叶片上的数量减少了 28.57% ( $P<0.05$ ),表明金龟子绿僵菌处理植株对苜蓿斑蚜表现出一定的排斥作用。但在 48 h 和 72 h 时,处理组叶片上苜蓿斑蚜的数量分别占总接蚜数的 47.71% 和 51.97%,与对照组叶片上的蚜虫数量占总接蚜量的比例均无显著差异(图5)。



CK: 对照植株; Ma: 金龟子绿僵菌处理植株; ACK: 接有蚜虫的对照植株; AMA: 接有蚜虫的金龟子绿僵菌处理植株。  
CK: The control plant; Ma: alfalfa treated with *M. anisopliae*; ACK: the control plant inoculated with aphids; AMA: the plant with treated *M. anisopliae* and inoculated with aphids.

图4 金龟子绿僵菌和苜蓿斑蚜处理对苜蓿叶绿素和胡萝卜素含量的影响  
Fig. 4 Effects of *Metarhizium anisopliae* and *Theroaphis trifolii* treatment on chlorophyll and carotene contents in alfalfa

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验同龄植株在不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments for plants of the same age by Duncan's new multiple range test ( $P<0.05$ )。



CK: 对照植株; Ma: 金龟子绿僵菌处理植株。CK: The control plant; Ma: alfalfa treated with *Metarhizium anisopliae*.

图5 金龟子绿僵菌处理对苜蓿植株排趋性的影响

Fig. 5 Effect of *Metarhizium anisopliae* on antixenosis in alfalfa

\*表示经 LSD 法检验相同时间点不同处理间差异显著( $P<0.05$ ); ns 表示差异不显著( $P>0.05$ )。\* indicates significant difference among different treatments at the same time by LSD test ( $P<0.05$ ); ns indicates no significant difference ( $P>0.05$ )。

## 2.4 金龟子绿僵菌处理对苜蓿斑蚜发育与繁殖的影响

取食金龟子绿僵菌处理叶片的苜蓿斑蚜若蚜发育减缓,1龄至4龄若虫的发育历期分别为1.61、1.64、1.95和2.03 d,均较取食对照叶片的苜蓿斑蚜延长,但均无显著差异(表1)。取食金龟子绿僵菌处理叶片的苜蓿斑蚜成蚜寿命只有10.57 d,比取食对照叶片的苜蓿斑蚜显著缩短了30.09%( $P<0.05$ );

取食金龟子绿僵菌处理叶片的苜蓿斑蚜总生命历程平均为17.64 d,比取食对照叶片的苜蓿斑蚜显著缩短了18.83%( $P<0.05$ ;表1)。在繁殖力方面,取食金龟子绿僵菌处理叶片的苜蓿斑蚜单雌产子量与取食对照叶片的苜蓿斑蚜无显著差异,但前者的单雌产子天数较后者显著减少(表1)。

表1 取食金龟子绿僵菌处理紫花苜蓿叶片对苜蓿斑蚜发育与繁殖的影响

Table 1 Effect of feeding alfalfa leaves treated with *Metarhizium anisopliae* on the development and fecundity of *Theroaphis trifolii*

参数 Parameter	对照CK		金龟子绿僵菌处理 <i>M. anisopliae</i> treatment		95% 置信区间 95% confidence interval	<i>P</i>
	活虫数 No. of live insects	平均数±标准误 Mean±SE	活虫数 No. of live insects	平均数±标准误 Mean±SE		
1龄若蚜发育历期 Duration of the 1st instar nymph/d	50	1.34±0.10	50	1.61±0.11	(-0.02, 0.56)	0.070
2龄若蚜发育历期 Duration of the 2nd instar nymph/d	46	1.33±0.13	43	1.64±0.08	(-0.01, 0.64)	0.056
3龄若蚜发育历期 Duration of the 3rd instar nymph/d	43	1.74±0.07	40	1.95±0.09	(-0.04, 0.45)	0.103
4龄若蚜发育历期 Duration of the 4th instar nymph/d	42	2.02±0.08	37	2.03±0.06	(-0.23, 0.23)	0.987
预成蚜历期 Duration of pre-adult stage/d	42	6.61±0.17	37	7.07±0.20	(-0.12, 1.04)	0.119
成蚜寿命 Lifespan of adult stage/d	42	15.12±0.80	37	10.57±0.89	(-7.23, -1.88)*	0.001
APOP/d	41	0.99±0.10	31	0.88±0.09	(-0.41, 0.19)	0.466
TPOP/d	41	16.11±0.83	31	11.45±0.88	(-7.37, -1.96)*	0.001
单雌产子天数 Days of oviposition per female/d	41	14.13±0.79	31	9.69±0.90	(-7.12, -1.77)*	0.001
单雌产子量 Fecundity per female	41	18.30±1.14	31	22.76±2.19	(-0.99, 9.91)	0.107
总生命历程 Total lifecycle/d	41	21.73±0.78	31	17.64±0.91	(-6.77, -1.42)*	0.003

TPOP为从昆虫诞生到昆虫产生后代的时间段;APOP为从昆虫发育为成虫到产生后代的时间段。<sup>\*</sup>表示经配对引导测试法检验不同处理间苜蓿斑蚜生命表参数的95%置信区间差异显著( $P<0.05$ )。TPOP, total preoviposition period; APOP, adult preoviposition period. \* indicates that the 95% confidence interval for life table parameters of aphids significantly differences between treatment and control by paired bootstrap test ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

作为一种昆虫病原真菌,金龟子绿僵菌对害虫致病性及其作用机制已研究得十分透彻,相较之下,金龟子绿僵菌促进植物生长、提高植物抗性的功能及作用机制还有待进一步挖掘。本研究结果表明,利用金龟子绿僵菌孢子粉拌土培养紫花苜蓿植株,可使其株高显著增加,分枝数显著增多,根长显著增长。Elena et al. (2011)研究发现用Ma8、Ma10和Ma20三种绿僵菌的孢子悬浮液浇灌番茄植株后,株高、根长、地上部分干重和地下部分干重均显著高于对照;Siqueira et al. (2020)研究结果显示在接种罗

伯茨绿僵菌 *Metarhizium robertsii* ESALQ 1635 菌株10、15和30 d后,番茄植株的株高、根长和茎部干重均有所增加;Liu et al. (2022)使用金龟子绿僵菌接种玉米 *Zea mays* 幼苗后,追踪记录35 d植株的生长参数后,发现植株的株高、根长以及鲜重等均显著增加。可见,金龟子绿僵菌可促进植株生长。

绿僵菌等昆虫病原真菌可诱导植物产生抗性反应,增强植株抗病虫害的能力,如Canassa et al. (2020)研究发现将罗伯茨绿僵和球孢白僵菌接种于草莓 *Fragaria × ananassa* 根部后可以有效降低植物病原真菌草莓球腔菌 *Mycosphaerella fragariae*、长丝拟盘多毛孢菌 *Pestalotiopsis longisetula* 的侵染和

叶面害虫二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 的为害; Ahmad et al.(2020)利用罗伯茨绿僵菌孢子悬浮液处理玉米种子,发现取食玉米植株的小地老虎 *Agrotis ipsilon* 幼虫的生长速度被显著抑制。这表明绿僵菌作为生防真菌,可兼顾害虫防治与植物促生能力,在植保资源应用中极具潜力。

金龟子绿僵菌可诱导苜蓿产生更强的抗虫性。本研究结果表明,金龟子绿僵菌处理栽培基质后种植紫花苜蓿,可使植株株高增加、分枝数增多、根长增长,并提高了植株对苜蓿斑蚜的耐害性;苜蓿斑蚜可自主选择食物时,在 24 h 内对处理组紫花苜蓿叶片的选择数量显著少于对照组叶片的选择数量,表现出金龟子绿僵菌诱导植株产生对苜蓿斑蚜的排斥性;苜蓿斑蚜因取食金龟子绿僵菌处理栽培的紫花苜蓿导致了若虫发育减缓、成虫寿命及总生命历程缩短,即紫花苜蓿植株表现出对苜蓿斑蚜抗生性的增强。此前关于昆虫病原真菌促进植物耐害性、排趋性和抗生性也有报道。Liao et al.(2017)研究证明罗伯茨绿僵菌可以促进拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 幼苗的侧根生长和根毛发育;孙艺昕等(2020)通过室内测定试验发现玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* 取食被白僵菌 YC1 菌株浸种处理的玉米植株后,其产卵量显著低于对照,且在取食选择试验中,处理组植株表现出对玉米蚜的趋避作用;Vega(2018)综述了有关昆虫病原真菌接种于植物及作为植物内生菌的研究进展,在 85 篇文献中有 39 篇提及了昆虫病原真菌通过宿主植物对不同昆虫产生影响,涉及 8 目 17 科 33 种;有 38 项研究报道了昆虫病原真菌接种植物后对昆虫的取食或发育的抑制作用。有关植物耐害性、排趋性和抗生性的评价,针对不同作物有不同的指标。对于小麦 *Triticum aestivum*,以耐蚜值即千粒重损失率/灌浆期蚜量来衡量耐害性(胡想顺等,2022);对于水稻 *Oryza sativa*,以功能植物损失指数来衡量水稻对白背飞虱 *Sogatella furcifera* 的耐害性,以各品种水稻上虫口数量比评价水稻对白背飞虱的忌避性(排趋性),以若虫生存率、成虫产卵量和孵化率评价水稻对白背飞虱的抗生性(刘芳等,1998);对于苜蓿,以苜蓿株高、分枝数和干鲜比等植物自身生长参数评价其对苜蓿斑蚜的耐害性,以不同品系苜蓿叶片上苜蓿斑蚜的数量评价苜蓿对苜蓿斑蚜的排趋性,以苜蓿对苜蓿斑蚜发育历期的影响评价其抗生性(许永霞,2008)。

采用不同接种方法如叶面喷洒、土壤浸渍、种子浸泡和注射等都可有效将昆虫病原真菌引入植物成

为内生菌,诱导植物产生或增强抗性(包括抗虫性),但这种定殖似乎是局部的和短暂的,是否会使植物获得实质性、长期性的抗性还不清楚(Vega, 2018)。本研究以金龟子绿僵菌处理基质后播种紫花苜蓿,分析了株龄在 7~28 d 期间植株的抗虫性,发现金龟子绿僵菌在增强植株耐害性、排趋性、抗生性上均有一定作用,但有些参数如株高、干重及叶绿素等生长参数在不同株龄时表现为较对照显著提高或无显著差异,排趋性也仅仅在 24 h 时有显著增强而在 48 h 后无显著差异,可见这种诱导抗性可能有局部性或时段性,也可能像 Kim & Felton(2012)研究植物防御警备时阐释的:作为有益微生物,绿僵菌处理或侵染仅诱发了植物产生一种“警备”的生理状态和微弱的抗性水平,以备当遭受昆虫袭击时能产生更加迅速、强烈的诱导防御反应。

本研究所检测的紫花苜蓿仅限于播种 28 d 后的幼苗,而植物在不同阶段的发育并非线性,不同生长参数及其反映的耐害性也有差别,因此一些生长参数可能并未产生响应金龟子绿僵菌诱导作用的变化。另外,本研究尚未检测培养基质中金龟子绿僵菌在紫花苜蓿根际的定殖情况,若能将植株根际的菌群动态与植株对苜蓿斑蚜的抗性联系起来,将会进一步说明金龟子绿僵菌对紫花苜蓿抗蚜功能的影响趋势。金龟子绿僵菌与植物之间的分子识别、诱导植物抗虫性的途径及调控机理等仍需进一步探索研究。

## 参考文献 (References)

- Agrawal AA. 1998. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science*, 279(5354): 1201–1202
- Ahmad I, del Mar Jiménez-Gasco M, Luthe DS, Shakeel SN, Barbercheck ME. 2020. Endophytic *Metarhizium robertsii* promotes maize growth, suppresses insect growth, and alters plant defense gene expression. *Biological Control*, 144: 104167
- Behie SW, Zelisko PM, Bidochka MJ. 2012. Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. *Science*, 336(6088): 1576–1577
- Behie SW, Moreira CC, Sementchoukova I, Barelli L, Zelisko PM, Bidochka MJ. 2017. Carbon translocation from a plant to an insect-pathogenic endophytic fungus. *Nature Communications*, 8: 14245
- Canassa F, Esteca FCN, Moral RA, Meyling NV, Klingen I, Delalibera I. 2020. Root inoculation of strawberry with the entomopathogenic fungi *Metarhizium robertsii* and *Beauveria bassiana* reduces incidence of the twospotted spider mite and selected insect pests and plant diseases in the field. *Journal of Pest Science*, 93(1): 261–274

- Chen L, Wang XG, Zhang YZ, Yang R, Zhang SR, Xu X, Zhu MJ, Gong CW, Hasnain A, Shen LT, et al. 2020. The population growth, development and metabolic enzymes of the white-backed planthopper, *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) under the sublethal dose of triflumezopyrim. Chemosphere, 247: 125865
- Chen WH, Itza B, Kaffle L, Chang TY. 2023. Life table study of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (Lepidoptera: Noctuidae) on three host plants under laboratory conditions. Insects, 14(4): 329
- Elena GJ, Beatriz PJ, Alejandro P, Roberto LE. 2011. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin promotes growth and has endophytic activity in tomato plants. Advances in Biological Research, 5(1): 22–27
- Feng MG, Poprawski TJ, Khachatourians GG. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. Biocontrol Science and Technology, 4(1): 3–34
- Gao LL, Horbury R, Nair RM, Singh KB, Edwards OR. 2007. Characterization of resistance to multiple aphid species (Hemiptera: Aphididae) in *Medicago truncatula*. Bulletin of Entomological Research, 97(1): 41–48
- Gupta R, Keppan R, Leibman-Markus M, Rav-David D, Elad Y, Ment D, Bar M. 2022. The entomopathogenic fungi *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana* promote systemic immunity and confer resistance to a broad range of pests and pathogens in tomato. Phytopathology, 112(4): 784–793
- Haukioja E. 1991. Induction of defenses in trees. Annual Review of Entomology, 36: 25–42
- Hu XS, Li GK, Zhang ZF, Zhao HY, Liu TX. 2022. Tolerance of wheat to the grain aphid *Sitobion avenae* and evaluation method: a review. Journal of Plant Protection, 49(4): 983–993 (in Chinese)
- [胡想顺, 李广阔, 张战凤, 赵惠燕, 刘同先. 2022. 小麦对麦长管蚜的耐害性及评估方法. 植物保护学报, 49(4): 983–993]
- Jaber LR, Enkerli J. 2017. Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth? Biocontrol Science and Technology, 27(1): 28–41
- Kim J, Felton GW. 2013. Priming of antiherbivore defensive responses in plants. Insect Science, 20(3): 273–285
- Liao XG, Lovett B, Fang WG, St Leger RJ. 2017. *Metarhizium robertsii* produces indole-3-acetic acid, which promotes root growth in *Arabidopsis* and enhances virulence to insects. Microbiology, 163(7): 980–991
- Liu F, Dai ZY, Hu GW, Tang J, Sogawa K. 1998. Antixenosis, antibiosis and tolerance of different rice cultivars to the white-backed planthopper (*Sogatella furcifera*). Chinese Journal of Rice Science, 12(3): 189–192 (in Chinese)
- [刘芳, 戴志一, 胡国文, 唐健, 寒川一成. 1998. 不同类型水稻品种对白背飞虱忌避性、抗生性和耐害性的测定. 中国水稻科学, 12(3): 189–192]
- Liu YM, Yang YK, Wang B. 2022. Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* play roles of maize (*Zea mays*) growth promoter. Scientific Reports, 12: 15706
- Lou YG, Cheng JA. 1997. Induced plant resistance to phytophagous insects. Acta Entomologica Sinica, 40(3): 320–331 (in Chinese)
- [娄永根, 程家安. 1997. 植物的诱导抗虫性. 昆虫学报, 40(3): 320–331]
- Nong XQ, Wang GJ, Cai N, Liu R, Zhang ZH. 2022. Multiple association of *Metarhizium* with plants and the application potential in plant protection. Plant Protection, 48(3): 22–30, 54 (in Chinese)
- [农向群, 王广君, 蔡霓, 刘蓉, 张泽华. 2022. 绿僵菌与植物的多重关系及其在植物保护中的应用潜力. 植物保护, 48(3): 22–30, 54]
- Scott IM, McDowell T, Renaud JB, Krolikowski SW, Chen L, Dhaubadel S. 2022. Investigation of metabolic resistance to soybean aphid (*Aphis glycines* Matsumura) feeding in soybean cultivars. Insects, 13(4): 356
- Siqueira ACO, Mascarin GM, Gonçalves CRNCB, Marcon J, Quecine MC, Figueira A, Delalibera I Jr. 2020. Multi-trait biochemical features of *Metarhizium* species and their activities that stimulate the growth of tomato plants. Frontiers in Sustainable Food Systems, 4: 137
- Sun YX, Men XY, Li C, Yu Y, Lü SH, Sun TL, Ye BH, Li LL. 2020. Effects of highly insect resistant corn endophytic fungi on growth, reproduction and feeding preference of *Rhopalosiphum maidis*. Chinese Journal of Biological Control, 36(2): 184–188 (in Chinese)
- [孙艺昕, 门兴元, 李超, 于毅, 吕素洪, 孙廷林, 叶保华, 李丽莉. 2020. 高抗虫玉米内生真菌对玉米蚜生长、繁殖及取食选择的影响. 中国生物防治学报, 36(2): 184–188]
- Vega FE. 2018. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. Mycologia, 110(1): 4–30
- Wu ZG, Zhu MM, Zhang R, Zhang ZH, Li ZH. 2013. An assessment of economic losses of alfalfa caused by *Therioaphis trifolii* (Homoptera: Callaphididae) in China. Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology, 54(11): 74–77 (in Chinese)
- [吴志刚, 朱蒙猛, 张蓉, 张泽华, 李志红. 2013. 苜蓿斑蚜对我国苜蓿商品草的经济损失评估. 宁夏农林科技, 54(11): 74–77]
- Xiong B. 2022. Disease and pest control and feeding value analysis of alfalfa. The Chinese Livestock and Poultry Breeding, 18(5): 51–52 (in Chinese)
- [熊兵. 2022. 紫花苜蓿的病虫害防治及饲用价值分析. 中国畜禽种业, 18(5): 51–52]
- Xu YX. 2008. Resistance mechanism of alfalfa varieties (lines) to *Therioaphis trifolii*. Master thesis. Lanzhou: Gansu Agricultural University (in Chinese)
- [许永霞. 2008. 苜蓿品种(系)对苜蓿斑蚜的抗性机制. 硕士学位论文. 兰州: 甘肃农业大学]
- Zhu WQ. 2021. Mechanism of engineered nanosilicon on maize plant resistance against oriental armyworm (*Mythimna separata*). Master thesis. Wuxi: Jiangnan University (in Chinese)
- [朱文清. 2021. 人工合成纳米硅对玉米粘虫抗性的作用机制研究. 硕士学位论文. 无锡: 江南大学]

(责任编辑:李美娟)