

球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种对玉米抗虫性及叶片防御酶活性的影响

展昭凤^{1,2}, 苟雪莲², 王振营², 张永军^{2,3}, 王秀平^{1*}, 郭井菲^{2,3*}

(1. 河北科技师范学院农学与生物科技学院/河北省作物逆境生物学重点实验室, 秦皇岛 066004; 2. 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; 3. 中国农业科学院中原研究中心, 河南新乡 453500)

摘要: 为明确球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* Bb20091317 和莱氏绿僵菌 *Metarhizium rileyi* MrCDTLJ1 浸种对玉米抗虫性及叶片防御酶活性的影响, 本试验采用盆栽试验, 检测浸种植株叶片对亚洲玉米螟和草地贪夜蛾的抗性以及叠加草地贪夜蛾为害 0、2、12、24 和 48 h 后叶片中苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、多酚氧化酶 (PPO)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 的活性。结果显示 Bb20091317 浸种可显著增强草地贪夜蛾为害诱导前后玉米叶片中 POD、PPO 和 SOD 活性。MrCDTLJ1 浸种可显著增加草地贪夜蛾为害诱导前后玉米叶片中 POD 和 SOD 活性, 但对 SOD 和 PAL 活性无显著诱导。取食 Bb20091317、MrCDTLJ1 浸种玉米叶片的亚洲玉米螟幼虫体重显著低于取食未浸种玉米叶片的幼虫体重。而取食 Bb20091317、MrCDTLJ1 浸种叠加草地贪夜蛾为害诱导 24 h 玉米叶片的草地贪夜蛾幼虫体重与取食未经虫害诱导玉米叶片的幼虫体重相比虽显著降低, 但与草地贪夜蛾为害诱导 24 h 的未浸种玉米叶片饲喂的幼虫相比无显著差异。以上结果表明, Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种能诱导玉米产生系统防御反应, 在草地贪夜蛾为害诱导后会产生强烈的酶活响应, 同时参与调控玉米对亚洲玉米螟和草地贪夜蛾的抗性。

关键词: 球孢白僵菌; 莱氏绿僵菌; 玉米; 亚洲玉米螟; 草地贪夜蛾; 防御酶

中图分类号: S476.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2025)01-0054-09

Effects of Seed Soaking with *Beauveria bassiana* and *Metarhizium rileyi* on Defense Enzyme Activities and Insect Resistance in Maize Leaves

ZHAN Zhaofeng^{1,2}, GOU Xuelian², WANG Zhenying², ZHANG Yongjun^{2,3}, WANG Xiuping^{1*}, GUO Jingfei^{2,3*}

(1. College of Agronomy and Biotechnology, Hebei Normal University of Science and Technology / Hebei Key Laboratory of Crop Adversity Biology, Qinhuangdao, Hebei 066004, China; 2. State Key National Key Laboratory of Integrated Control of Plant Pests and Diseases, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. Zhongyuan Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453500, Henan)

Abstract: This study aim is to delve into the impact of seed treatment using entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* Bb20091317 and *Metarhizium rileyi* MrCDTLJ1 on insect resistance and the activity of defense enzymes in maize. Employing a pot experiment setup, the investigation aimed to evaluate the resistance of maize leaves which seeds soaked with *B. bassiana* Bb20091317 and *M. rileyi* MrCDTLJ1, respectively, against *Ostrinia furnacalis* and *Spodoptera frugiperda*, as well as the activity of levels of key enzymes such as phenylalanine ammonia-lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO), superoxide dismutase (SOD), and peroxidase (POD) in *S. frugiperda* after injured maize leaves over various time intervals (0, 2, 12, 24, and 48 hours). The findings revealed

收稿日期: 2024-02-11

基金项目: 国家重点研发计划 (2021YFD1400705); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-02)

作者简介: 展昭凤, 硕士研究生, E-mail: 2193638906@qq.com; *通信作者, 郭井菲, 博士, 副研究员, E-mail: guojingfei1989@126.com; 王秀平, 博士, 研究员, E-mail: wangxiuping0721@163.com.

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2025.01.002

that treated seeds with Bb20091317 significantly bolstered the activities of POD, PPO, and SOD in maize leaves, both before and after the induction of *S. frugiperda* damage. Similarly, soaked seeds with MrCDTLJ1 significantly elevated POD and SOD activities in maize leaves before and after *S. frugiperda* damage, but did not significantly induce SOD and PAL activities. Notably, the weight of *O. furnacalis* larvae feeding on the leaves which seeds treated with Bb20091317 and MrCDTLJ1 was significantly lower compared to those feeding on non-soaked maize leaves. Additionally, the weight of *S. frugiperda* larvae induced by Bb20091317 and MrCDTLJ1-treated seeds, coupled with 24 hours of leaf damage, was significantly lower than larvae from untreated maize leaves subjected to *S. frugiperda* damage. However, there was no significant difference in the weight of larvae from *S. frugiperda* induced maize leaves for 24 hours compared to control leaves. In essence, the seed treatments with *B. bassiana* and *M. rileyi* stimulated systemic defense responses in maize, as evidenced by heightened enzyme activation following *S. frugiperda* herbivory, consequently enhancing resistance against *O. furnacalis* and *S. frugiperda*.

Key words: *Beauveria bassiana*; *Metarhizium rileyi*; *Zea mays*; *Ostrinia furnacalis*; *Spodoptera frugiperda*; defense enzymes

亚洲玉米螟(简称“玉米螟”) *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (鳞翅目 Lepidoptera, 草螟科 Crambidae) 是为害我国玉米的重要害虫之一, 一般春玉米受害可使玉米产量减少 10%~30%^[1]。草地贪夜蛾(俗称“秋黏虫”) *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (鳞翅目 Lepidoptera, 夜蛾科 Noctuidae) 是 2019 年 1 月新入侵我国的又一重大农业害虫^[2], 具有寄主广、繁殖快、为害重、防治难度大等特点^[3], 2023 年 3 月, 这两种害虫均被农业农村部列入《一类农作物病虫害名录》, 可见其为害之重。因此, 做好玉米螟、草地贪夜蛾等害虫的防治是确保玉米产量和粮食安全的重要环节。目前, 玉米螟和草地贪夜蛾的防治主要依赖化学药剂, 化学防治是害虫应急防治的有效措施, 但也不可避免地带来了农药残留、环境污染以及抗药性的问题^[4]。因此, 亟待探索生态友好、不易产生抗性、绿色安全的玉米害虫可持续防控技术。利用白僵菌属 *Beauveria* spp. 和绿僵菌属 *Metarhizium* spp. 为代表的昆虫病原真菌防治害虫一直以来都是实现害虫可持续治理的重要手段之一^[5]。害虫高致病力菌株的筛选是高效利用昆虫病原真菌的前提, 目前已经筛选出多株对玉米螟和草地贪夜蛾有效的昆虫病原真菌菌株, 如胡本进等^[6]和徐艳聆等^[7]筛选出对玉米螟具有高致病力的球孢白僵菌菌株 B05 和 B6。秦华伟等^[8]、庞继鑫等^[9]、邹春华等^[10]和毕思佳等^[11]筛选出对草地贪夜蛾具有较高致病力的球孢白僵菌菌株 SHL-2020、SfG01、GZSL-1 和 Bb378。胡飞等^[12]筛选出对草地贪夜蛾具有较高致病力的莱氏绿僵菌菌株 Mr006。Laiju 等^[13]筛选出能有效抑制草地贪夜蛾生长和发育的球孢白僵菌菌株 GHA。

昆虫病原真菌可以从昆虫的体壁、呼吸道及消化道等部位直接侵染昆虫, 还能通过灌根、浸种、喷施叶片等方式定殖到植物体内, 形成共生体^[14], 发挥控制害虫, 促进植物生长的双重生防制剂的作用。Lopez 等^[15]研究发现球孢白僵菌和淡紫紫孢菌 *Purpureocillium lilacinum* 可通过浸种处理定殖在棉花植株内, 从而降低棉花上棉蚜 *Aphis gossypii* 和棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的存活率和繁殖力。

昆虫病原真菌还可以提高植物抗性的机制, 从而抑制植物病原体和控制害虫, 减轻对植物的为害^[16]。如 Tschartke 等^[17]和 Batool 等^[18]研究发现, 当昆虫病原真菌-植物共生体遭受害虫取食侵害时, 会快速激活植物体内的防御酶和植物激素信号的传导, 从而增强植株对害虫的防御机制。Batool 等^[19]进一步研究发现, 多种与防御相关的次生代谢物和防御酶参与了昆虫病原真菌-植物共生体系对害虫的防御, 其中防御酶包括与抗病相关的多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO)、苯丙氨酸解氨酶 (Phenylalanine ammonia-lyase, PAL), 以及与抗氧化相关的超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 等。同样的, 费泓强等^[20]研究发现在玉米叶片遭到病虫害侵袭时, 玉米叶片中的防御酶 PAL、PPO、SOD 和 POD 的活性在球孢白僵菌定殖后均呈升高趋势, 其中 SOD 活性增加幅度最大, 达到 24.90%。

当害虫在田间发生时, 玉米会一直处于虫害胁迫的状态, 那么虫害胁迫下的玉米抗虫物质含量高决定了其有效抗虫能力的大小。因此本试验利用对草地贪夜蛾具高效致病力的球孢白僵菌 Bb20091317 和莱

氏绿僵菌 MrCDTLJ1^[21]，利用浸种法使其定殖玉米后，研究草地贪夜蛾取食为害前后的防御酶活性变化，同时研究球孢白僵菌/莱氏绿僵菌定殖玉米对玉米螟和草地贪夜蛾幼虫生长发育的抑制作用，为进一步阐明球孢白僵菌/莱氏绿僵菌定殖玉米对不同害虫的防御策略提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株、虫源和寄主植物

球孢白僵菌 Bb20091317 由中国农业科学院植物保护研究所草地害虫组提供，莱氏绿僵菌 MrCDTLJ1 由广西农业科学院植物保护研究所生物防治研究室害虫生物防治研究团队提供。球孢白僵菌用马铃薯葡萄糖琼脂 (Potato dextrose agar, PDA) (PDA 培养基成分: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、蒸馏水 1000 mL) 培养基于温度 (26±1) °C、相对湿度 (60±5) %、全黑暗条件的人工气候箱中培养 10 d; 莱氏绿僵菌用萨氏麦芽糖琼脂酵母培养基 (Sabouraud maltose agar for yeast, SMAY) (SMAY 培养基成分: 麦芽糖 40 g、蛋白胨 10 g、酵母浸粉 10 g、琼脂 18 g、蒸馏水 1000 mL) 于温度 (26±1) °C、相对湿度 (80±5) %、光周期 12L:12D 的人工气候箱中培养 10 d。

试验所需的草地贪夜蛾幼虫利用夜蛾科通用人工饲料在温度 (26±1) °C，光周期 14L:10D，相对湿度为 (60±5) % 条件下饲养。玉米螟幼虫在温度 (26±1) °C，光周期 16L:8D，湿度 (75±5) % 条件下，用玉米螟人工饲料饲养。

供试玉米品种为郑单 958。选择饱满、健康无虫和颗粒大小均一的玉米种子进行浸种处理。

1.2 玉米浸种法接种球孢白僵菌/莱氏绿僵菌

将表面消毒后的玉米种子分别浸泡在配制好的 1×10^8 个/mL 孢子浓度的 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 孢子悬浮液中，对照玉米种子浸泡在 0.05% 吐温-80 无菌溶液。在 28 °C、200 r/min 摇床上浸泡 12 h。浸泡完成后将种子放置超净工作台，用无菌滤纸吸干多余水分，晾干 30 min 后将种子种在装有无菌土壤的花盆中，营养土和蛭石的比例为 1:1，每盆播种 2~3 粒。播种好的玉米种子置于人工气候箱培养 (26±1) °C，RH 75%±5%，光周期 14L:10D。

1.3 草地贪夜蛾取食诱导后叶片收集及防御酶活力测定

在玉米出苗 14 d 后，用小毛笔轻轻地在每株玉米的心叶内接种 5 头 3 龄幼虫，幼虫提前进行 6 h 饥饿处理。为避免不同取样时间对酶活性测定结果造成影响，本试验在不同时间进行接虫以保证所有样品能在同一时间收集。为害时间分别为 0 (对照)、2、12、24 和 48 h，其中为害 48 h 在晚上 20:00 进行接虫。收集玉米心叶草地贪夜蛾取食周围的叶片用于防御酶活性的测定。玉米叶片中的苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、多酚氧化酶 (PPO)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性测定均参照南京建成科技有限公司试剂盒说明书来进行，4 株玉米作为 1 个重复，每个取食时间点设置 3 次重复。

1.4 玉米叶片对玉米螟和草地贪夜蛾的组织生测

利用球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种处理的玉米叶片饲喂玉米螟初孵幼虫。同时为研究球孢白僵菌/莱氏绿僵菌浸种处理的玉米叶片在草地贪夜蛾为害诱导后对再来为害的草地贪夜蛾的抗性，本试验还利用草地贪夜蛾为害诱导 24 h 玉米叶片饲喂草地贪夜蛾初孵幼虫 (孵化时间 < 24 h)。每天调查被感染或者死亡虫数，连续饲喂 7 d 后测定幼虫体重。虫害诱导 24 h 玉米叶片的处理和收集方法同 1.3。

1.5 数据统计与分析

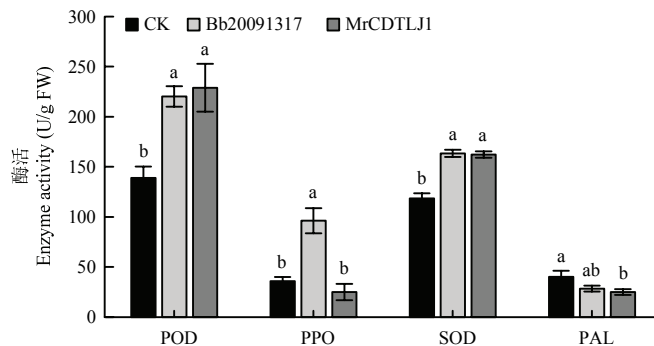
试验数据采用 Excel 2016 进行整理，在 SPSS 26.0 软件中进行统计分析。用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行数据差异显著性检测，利用 GraphPad Prism 8.0.2 软件做图。

2 结果与分析

2.1 球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种对玉米叶片防御酶活性影响

图 1 结果显示不同防御酶活性对 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 的响应不同。Bb20091317 浸种处理玉米叶片中 POD、PPO 和 SOD 活性均显著高于 CK 叶片中 POD、PPO 和 SOD 的活性，增加倍数分别为 1.6、2.7

和 1.4 倍 (POD: $P=0.013$, PPO: $P=0.003$, SOD: $P<0.001$) (图 1)。MrCDTLJ1 浸种处理玉米叶片中 POD 和 SOD 的活性均显著高于 CK 叶片中 POD 和 SOD 活性, 增加倍数分别为 1.7 和 1.4 倍 (POD: $P=0.008$, SOD: $P<0.001$), 而 PPO 活性与 CK 叶片中 PPO 活性差异不显著 (图 1)。PAL 在 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理玉米叶片中活性与 CK 叶片中 PAL 活性相比均无显著差异。



注: 数据为平均值±标准误, 不同小写字母表示 0.05 水平上差异显著, 下同。

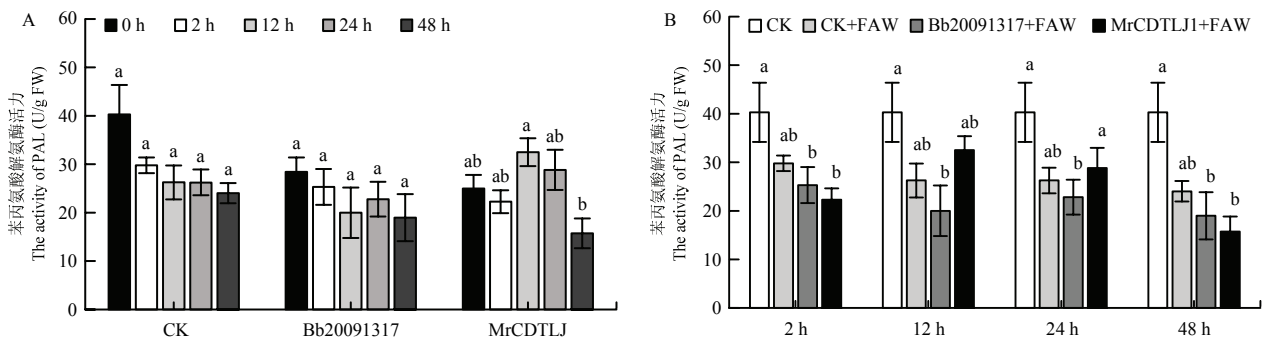
Note: Data were presented as mean±SE, data with different lowercase letters indicated significant difference at 0.05 level. The same as below.

图 1 球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种处理对玉米叶片中防御酶活性的影响

Fig. 1 Effect of *B. bassiana* and *M. rileyi* seed soaking treatment on antioxidant enzyme in maize leaves

2.2 浸种处理叠加草地贪夜蛾为害对玉米叶片 PAL 活性影响

CK、Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理的玉米植株在草地贪夜蛾为害诱导 2、12、24 和 48 h 的 PAL 活性与草地贪夜蛾未取食诱导前的活性相比均无显著差异 (图 2A)。与未受到草地贪夜蛾为害的对照叶片 PAL 活性相比, Bb20091317 浸种叠加草地贪夜蛾取食 2、12、24 和 48 h 的 PAL 活性显著降低至对照的 0.6、0.5、0.6 和 0.5 倍 (2 h: $P=0.025$, 12 h: $P=0.014$, 24 h: $P=0.021$, 48 h: $P=0.008$), MrCDTLJ1 浸种叠加草地贪夜蛾取食 2 和 48 h 的 PAL 活性显著降低至对照的 0.5 和 0.4 倍 (2 h: $P=0.011$, 48 h: $P=0.004$) (图 2B)。



A: 同一浸种处理玉米在草地贪夜蛾为害不同时间的 PAL 活性变化 Changes in PAL activity of maize leaves feeding by *S. frugiperda* for different time under the same soaking treatment; B: 不同浸种处理玉米在草地贪夜蛾为害同一时间下的 PAL 活性变化 Changes in PAL activity of maize leaves at one feeding time for different soaking treatments

图 2 球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种处理结合草地贪夜蛾为害诱导不同时间对玉米叶片 PAL 活性的影响

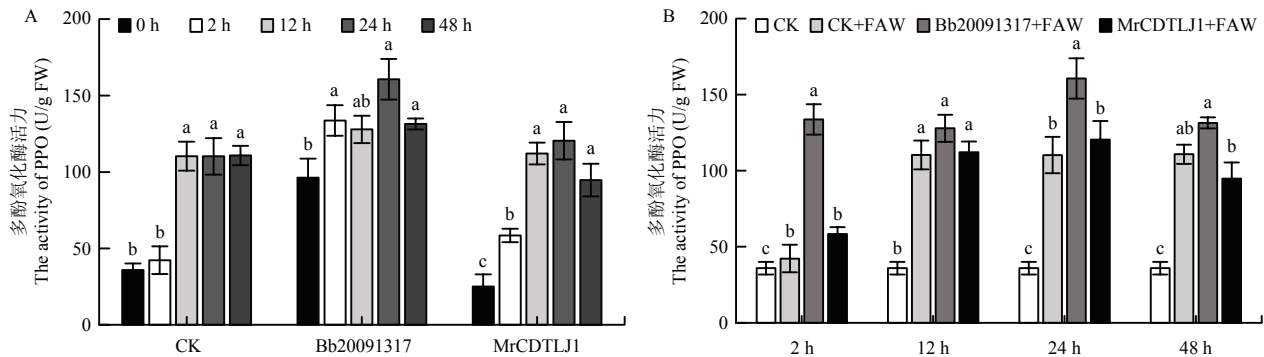
Fig. 2 PAL activity in maize leaves induced by seed soaking treatment with *B. bassiana* and *M. rileyi* and infestation of *S. frugiperda* at different time points

2.3 浸种处理叠加草地贪夜蛾为害对玉米叶片 PPO 活性影响

草地贪夜蛾为害均可诱导 CK、Bb20091317 和 MrCDTLJ1 处理的玉米叶片 PPO 活性显著增加。其中, CK 玉米叶片中 PPO 的活性在草地贪夜蛾为害 12、24 和 48 h 显著增加, 增加倍数均为 3.1 倍 (12 h: $P<0.001$, 24 h: $P<0.001$, 48 h: $P<0.001$)。Bb20091317 浸种处理的叶片中 PPO 的活性在草地贪夜蛾为害

2、24 和 48 h 显著增加, 增加倍数分别为 3.7、4.5 和 3.7 倍 (2 h: $P=0.027$, 24 h: $P=0.001$, 48 h: $P=0.036$)。MrCDTLJ1 浸种处理的叶片中 PPO 的活性在草地贪夜蛾为害 2、12、24 和 48 h 显著增加, 其中在 24 h 时达到最大诱导水平, 为对照的 3.4 倍 ($P<0.001$) (图 3A)。

与未受到草地贪夜蛾为害的对照玉米叶片 PPO 活性相比, Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种叠加草地贪夜蛾为害 2、12、24 和 48 h 会显著增强 PPO 活性, 增加倍数分别为 3.7、3.6、4.5、3.7 倍和 1.6、3.1、3.4、2.6 倍, 其中, Bb20091317 浸种处理的叶片 PPO 活性增加强度明显高于 CK 和 MrCDTLJ1 浸种处理的叶片 PPO 活性 (图 3B)。



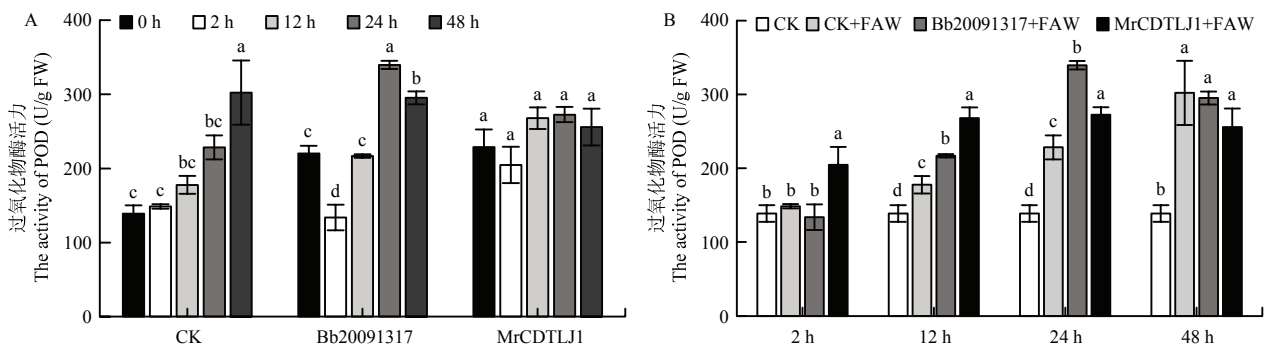
A: 同一浸种处理玉米在草地贪夜蛾为害不同时间的 PPO 活性变化 Changes in PPO activity of maize leaves feeding by *S. frugiperda* for different time under the same soaking treatment; B: 不同浸种处理玉米在草地贪夜蛾为害同一时间下的 PPO 活性变化 Changes in PPO activity of maize leaves at one feeding time for different soaking treatments

图 3 球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种处理结合草地贪夜蛾为害诱导不同时间对玉米叶片 PPO 活性的影响

Fig. 3 PPO activity in maize leaves induced by seed soaking treatment with *B. bassiana* and *M. rileyi* and infestation of *S. frugiperda* at different time points

2.4 浸种处理叠加草地贪夜蛾为害对玉米叶片 POD 活性影响

草地贪夜蛾为害可诱导 CK 和 Bb20091317 浸种处理的玉米叶片 POD 活性显著增加, 但对 MrCDTLJ1 浸种处理的玉米叶片 POD 活性无显著影响。其中, CK 玉米叶片中 POD 活性只在草地贪夜蛾为害 48 h 时显著增加, 增加至对照的 2.2 倍 ($P<0.001$)。Bb20091317 浸种处理的玉米叶片 POD 活性在草地贪夜蛾为害 24 和 48 h 均显著增加, 增加倍数分别为 1.5 和 1.3 倍 (24 h: $P<0.001$, 48 h: $P<0.001$) (图 4A)。



A: 同一浸种处理玉米在草地贪夜蛾为害不同时间的 POD 活性变化 Changes in POD activity of maize leaves feeding by *S. frugiperda* for different time under the same soaking treatment; B: 不同浸种处理玉米在草地贪夜蛾为害同一时间下的 POD 活性变化 Changes in POD activity of maize leaves at one feeding time for different soaking treatments

图 4 球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种处理结合草地贪夜蛾为害诱导不同时间对玉米叶片 POD 活性的影响

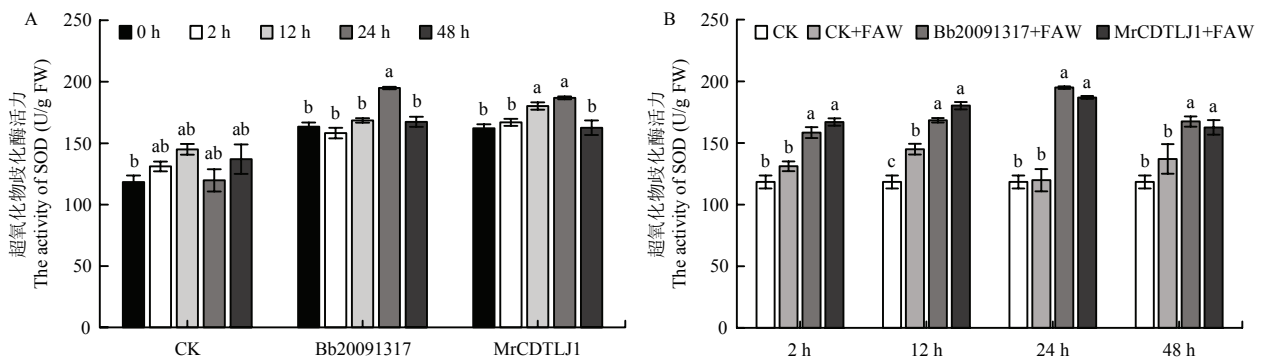
Fig. 4 POD activity in maize leaves induced by seed soaking treatment with *B. bassiana* and *M. rileyi* and infestation of *S. frugiperda* at different time points

与未受到草地贪夜蛾为害的对照玉米叶片 POD 活性相比, Bb20091317 浸种叠加草地贪夜蛾为害 12、24 和 48 h 会显著增强 POD 活性, 增加倍数分别为 1.6、2.5 和 2.1 倍。MrCDTLJ1 浸种叠加草地贪夜蛾为害 2、12、24 和 48 h 也会显著增强 POD 活性, 增加倍数分别为 1.5、1.9、2.0 和 1.8 倍。Bb20091317 浸种叠加草地贪夜蛾为害 24 h 时 POD 活性达到最大值, 为 (344.5 ± 19.3) U/g (图 4B)。

2.5 浸种处理叠加草地贪夜蛾为害对玉米叶片 SOD 活性影响

总体来看, 草地贪夜蛾为害对三种浸种处理的玉米叶片 SOD 活性影响不大, 仅 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理玉米叶片在草地贪夜蛾为害 24 h 时的 SOD 活性会显著增加, 增加倍数均为 1.2 倍 ($P < 0.001$) (图 5A)。

与未受到草地贪夜蛾为害的对照玉米叶片中的 SOD 活性相比, Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种叠加草地贪夜蛾为害 2、12、24 和 48 h 均会显著增强 SOD 活性, 增加倍数分别为 1.3、1.4、1.7、1.4 倍和 1.4、1.5、1.6、1.4 倍 (图 5B)。



A: 同一浸种处理玉米在草地贪夜蛾为害不同时间的 SOD 活性变化 Changes in SOD activity of maize leaves feeding by *S. frugiperda* for different time under the same soaking treatment; B: 不同浸种处理玉米在草地贪夜蛾为害同一时间下的 SOD 活性变化 Changes in SOD activity of maize leaves at one feeding time for different soaking treatments

图 5 球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种处理结合草地贪夜蛾为害诱导不同时间对玉米叶片 SOD 活性的影响

Fig. 5 SOD activity in maize leaves induced by seed soaking treatment with *B. bassiana* and *M. rileyi* and infestation of *S. frugiperda* at different time points

2.6 浸种处理玉米对玉米螟的抗性和对草地贪夜蛾诱导抗性的影响

玉米螟幼虫取食 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理的玉米叶片 7 d 后, 体重分别为 (0.9 ± 0.1) mg 和 (0.8 ± 0.1) mg, 均显著低于取食对照玉米叶片玉米螟幼虫体重 (1.6 ± 0.1) mg ($P < 0.001$) (图 6)。

收集草地贪夜蛾幼虫为害 24 h 的 CK、Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理玉米叶片, 用该叶片喂养草地贪夜蛾初孵幼虫 7 d 后, 草地贪夜蛾的体重均在 5.2 mg 左右, 均显著低于取食各处理未经草地贪夜蛾诱导的玉米叶片的虫重, 取食各处理未经草地贪夜蛾诱导的玉米叶片的虫重分别为 (8.8 ± 0.1) 、 (7.4 ± 0.1) 和 (8.7 ± 0.2) mg (图 7)。

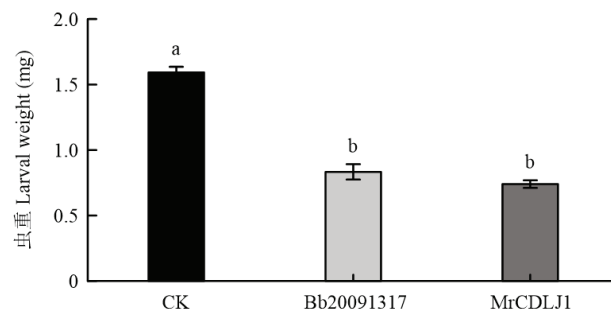
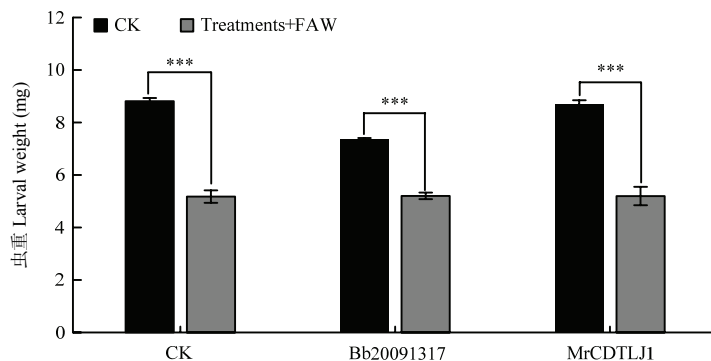


图 6 饲喂球孢白僵菌和莱氏绿僵菌浸种处理玉米叶片的玉米螟幼虫体重

Fig. 6 Effects of feeding on maize leaves of seed soaking treatment by *B. bassiana* and *M. rileyi* on larval weight of *O. furnacalis*



注：数据为平均值±标准误，***星号代表 0.001 的显著水平。

Note: Data were presented as mean ± SE, *** represents a significant level of 0.001.

图 7 饲喂浸种处理叠加草地贪夜蛾诱导后的玉米叶片的草地贪夜蛾幼虫体重

Fig. 7 Larval weight of *S. frugiperda* after feeding on the seed treated maize leaves and *S. frugiperda* infestation

3 讨论

球孢白僵菌等昆虫病原真菌可作为植物的外源刺激物，激活植物自身的防御系统，产生更多的抗虫反应来抑制植食性昆虫的生长发育^[22]。防御酶 PAL、SOD、POD 和 PPO 是植物增强防御能力的关键物质。如 POD、SOD 能够与酚类结合产生苯氧基等氧化自由基，直接阻碍昆虫取食或产生毒素，降低昆虫对植物的消化利用率，制约其生长发育。PPO 也可通过降低植物营养质量、产生有毒物质或者增强细胞壁硬度来发挥抗虫作用^[23]。本研究发现 Bb20091317 浸种可诱导 POD、PPO 和 SOD 活性显著增高，MrCDTLJ1 浸种可诱导 POD 和 SOD 活性显著增高，说明 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种均可增强 POD 和 SOD 等防御酶参与调控的植物防御反应。

植物有效的抗虫性是其害虫取食胁迫下所表现出来的抗性^[24]。本研究同时分析了 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理结合草地贪夜蛾为害诱导后的防御酶变化。结果显示不同浸种处理的玉米叶片在受到草地贪夜蛾为害不同时间时，不同防御酶会发生显著变化。不同防御酶对两种菌株的应答不同，PPO 仅对 Bb20091317 做出响应，POD 和 SOD 对两种菌株都会做出响应。不同防御酶响应害虫取食灵敏度不同，POD、PPO 和 SOD 较为灵敏，在草地贪夜蛾为害诱导的 2~48 h 内会发生不同程度的诱导，而 PAL 活性变化缓慢而稳定，这可能是因为 PAL 具有稳定性的组成表达机制^[25]。从诱导时间看，Bb20091317 处理的植株在草地贪夜蛾为害诱导 24 h 时，PPO、POD 和 SOD 活性最强，这与从春蕾等^[26]和帕提玛·乌木尔汗等^[27]在用虫害诱导后在抗性相关防御酶变化上的结果一致，说明植物在害虫取食胁迫 24 h 时，其抗虫物质含量最高。

研究中常用取食植物组织的幼虫体重变化来衡量植株抗性的大小^[28]。本研究取食 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理的玉米叶片的幼虫体重显著低于取食正常叶片的幼虫体重，但并未观察到被菌株感染致死的幼虫。这可能是因为本试验中，Bb20091317 和 MrCDTLJ1 主要定殖在根部，诱导玉米产生系统抗性，通过产生抑制昆虫取食的抗性物质来发挥抗虫作用，这种现象与之前冯树丹等^[29]报道的一致。Bb20091317 和 MrCDTLJ1 在叶片定殖率低，幼虫通过取食摄取的菌量有限，导致不能直接感染致死。与苟雪莲等^[30]利用 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理的玉米叶片饲养草地贪夜蛾初孵幼虫的试验结果比较，玉米叶片对玉米螟体重抑制率比草地贪夜蛾体重的要高，这可能是由于草地贪夜蛾对抗虫物质的解毒代谢能力强^[31,32]。在利用不同浸种处理叠加草地贪夜蛾为害诱导 24 h 叶片饲喂草地贪夜蛾初孵幼虫时发现，虽然 Bb20091317 和 MrCDTLJ1 浸种处理的玉米叶片在草地贪夜蛾为害诱导 24 h 的 PPO 和 POD 活性显著高于诱导后对照叶片的酶活性，但其对草地贪夜蛾幼虫体重的影响与取食在草地贪夜蛾为害诱导 24 h 的对照叶片幼虫体重相比无显著差异，进一步证明玉米在草地贪夜蛾取食胁迫下产生的诱导抗虫反应更复杂，多种物质共同调控玉米对草地贪夜蛾的直接抗性^[33]。

综上所述, 本研究结果表明球孢白僵菌 Bb20091317 和莱氏绿僵菌 MrCDTLJ1 可通过浸种方式定殖玉米, 防御酶活性显著增强, 使玉米植株进入防御状态, 当再受到草地贪夜蛾取食为害时, 玉米会产生更高的抗虫防御酶活性。由于在室内条件下, Bb20091317 和 MrCDTLJ1 在玉米叶片中的定殖率降低, Bb20091317 和 MrCDTLJ1 定殖植株只对玉米螟表现出了抗生性的效果, 因此需要在田间从抗生性、直接感染等角度对其抗虫效果进行进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 王振营, 王晓鸣. 我国玉米病虫害发生现状、趋势与防控对策[J]. 植物保护, 2019, 45(1): 1-11.
- [2] Jing D P, Guo J F, Jiang Y Y, et al. Initial detections and spread of invasive *Spodoptera frugiperda* in China and comparisons with other noctuid larvae in cornfields using molecular techniques[J]. Insect Science, 2020, 27(4): 780-790.
- [3] 郭井菲, 赵建周, 何康来, 等. 警惕危险性害虫草地贪夜蛾入侵中国[J]. 植物保护, 2018, 44(6): 1-10.
- [4] 郭井菲, 张永军, 王振营, 等. 中国应对草地贪夜蛾入侵研究的主要进展[J]. 植物保护, 2022, 48(4): 79-87.
- [5] 程东美, 洪婉雯, 孙辉, 等. 草地贪夜蛾幼虫僵虫发生率调查及致病菌分离鉴定[J]. 环境昆虫学报, 2020, 42(6): 1298-1304.
- [6] 胡本进, 李昌春, 徐丽娜, 等. 亚洲玉米螟高致病性球孢白僵菌菌株筛选及田间防治试验[J]. 中国植保导刊, 2013, 33(8): 23-26.
- [7] 徐艳聆, 吕文彦, 杜开书, 等. 亚洲玉米螟优良球孢白僵菌菌株的筛选[J]. 中国农学通报, 2010, 26(21): 278-281.
- [8] 秦华伟, 姚嘉静, 门兴元, 等. 玉米内生真菌对草地贪夜蛾生长发育的影响[J]. 植物保护, 2021, 47(5): 94-97.
- [9] 庞继鑫, 温绍海, 杜广祖, 等. 一株侵染草地贪夜蛾成虫的球孢白僵菌的分离鉴定[J]. 植物保护, 2022, 48(1): 185-190, 203.
- [10] 邹春华, 刘继辉, 吴伟, 等. 草地贪夜蛾病原白僵菌的分离鉴定及其致病力研究[J]. 植物保护, 2023, 49(6): 242-246.
- [11] 毕思佳, 吴晨源, 胡本进, 等. 球孢白僵菌 Bb378 菌株的分离、鉴定及对草地贪夜蛾的致病性研究[J]. 应用昆虫学报, 2023, 60(4): 1223-1232.
- [12] 胡飞, 徐婷婷, 彭辉, 等. 莱氏绿僵菌 Mr006 鉴定及对草地贪夜蛾致病力[J]. 中国生物防治学报, 2024, 40(1): 44-51.
- [13] KuzhuppillymyalPrabhakarankutty L, FerraraRivero F H, TamezGuerra P, et al. Effect of *Beauveria bassiana*-seed treatment on *Zea mays L.* response against *Spodoptera frugiperda*[J]. Applied Sciences, 2021, 11(7): 2887-2887.
- [14] 隋丽, 费泓强, 张正坤, 等. 白僵菌定殖对玉米苗期生长和防御酶指标的影响[C]//中国植物保护学会. 病虫害绿色防控与农产品质量安全——中国植物保护学会 2015 年学术年会论文集. 中国农业科学技术出版社, 2015, 1.
- [15] Diana L C, Keyan Z, Julissa M E, et al. The entomopathogenic fungal endophytes *Purpureocillium lilacinum* (formerly *Paecilomyces lilacinus*) and *Beauveria bassiana* negatively affect cotton aphid reproduction under both greenhouse and field conditions[J]. PLoS ONE, 2014, 9(8): e103891.
- [16] Russo L M, Vianna F M, Scorsetti C A, et al. Entomopathogenic fungi as dual control agents against two phytopathogens and the lepidopteran pest *Rachiplusia nu* in soybean[J]. Journal of Fungi, 2024, 10(2): 93.
- [17] Tschamtk T, Thiessen S, Dolch R, et al. Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2001, 29(10): 1025-1047.
- [18] Raufa B, Jawad M U, Wang Y Z, et al. Myco-synergism boosts herbivory-induced maize defense by triggering antioxidants and phytohormone signaling[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13790504-790504.
- [19] Raufa B, Gou X L, Dong H, et al. Endophytic fungi-mediated defense signaling in maize: unraveling the role of WRKY36 in regulating immunity against *Spodoptera frugiperda*[J]. Physiologia Plantarum, 2024, 176(2): e14243.
- [20] 费泓强, 隋丽, 朱慧, 等. 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[J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(6): 721-727.
- [21] 龙秀珍, 高旭渊, 曾宪儒, 等. 一株莱氏绿僵菌的筛选及其对草地贪夜蛾的毒力[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(6): 1111-1119.
- [22] 卫秋阳. 球孢白僵菌诱导番茄对烟粉虱抗性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2021.
- [23] Xie J H, Chai T T, Xu R, et al. Induction of defense-related enzymes in patchouli inoculated with virulent *Ralstonia solanacearum*[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2017, 27: 63-69.
- [24] 郭祖国, 王梦馨, 崔林, 等. 6 种防御酶调控植物体应答虫害胁迫机制的研究进展[J]. 应用生态学报, 2018, 29(12): 4248-4258.

- [25] 胡庆辉, 王程栋, 王树声, 等. NaCl 胁迫下鲜烟叶中多酚物质含量及 PAL 和 PPO 活性变化[J]. 中国烟草科学, 2013, 34(1): 51-55.
- [26] 从春蕾, 鄧军锐, 廖启荣, 等. 蓟马取食、机械损伤以及外源水杨酸甲酯和茉莉酸对菜豆叶片防御酶活性的影响[J]. 昆虫学报, 2014, 57(5): 564-571.
- [27] 帕提玛·乌木尔汗, 陈丽慧, 崔燕华, 等. 二斑叶螨危害对棉花应激防御酶活性的影响[J]. 环境昆虫学报, 2016, 38(6): 1185-1191.
- [28] Gao J, Gong L F, Wang H H, *et al.* Expression and functional analysis of ace1 and ace2 reveal their differential roles in larval growth and insecticide sensitivity in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)[J]. Journal of Pest Science, 2023, 96(4): 1651-1666.
- [29] 冯树丹, 李晓慧, 汪洋洲, 等. 二种交配型球孢白僵菌对亚洲玉米螟的生态控制作用[J]. 生态学报, 2017, 37(2): 650-658.
- [30] 苟雪莲, 王振营, 涂雄兵, 等. 两株虫生真菌对草地贪夜蛾的致病力及高毒力菌株与卵寄生蜂的相容性[J]. 植物保护学报, 2022, 49(5): 1505-1512.
- [31] 王芹芹, 崔丽, 王立, 等. 草地贪夜蛾对杀虫剂的抗性研究进展[J]. 农药学报, 2019, 21(4): 401-408.
- [32] Chen H L, Hasnain A, Cheng Q H, *et al.* Resistance monitoring and mechanism in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) for chlorantraniliprole from Sichuan Province, China[J]. Frontiers in Physiology, 2023, 14: 1180655.
- [33] 周绍群. 不同玉米品种对草地贪夜蛾抗性的评估及其在防治中的应用前景[J]. 植物保护, 2019, 45(5): 8-12.

(责任编辑: 张莹)