特 约 稿 件
Invited Paper

绿僵菌与植物的多重关系及其在植物保护中的应用潜力

农向群*， 王广君*， 蔡 霓， 刘 蓉， 张泽华

（中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100193）

摘要 绿僵菌是广为知晓的昆虫病原真菌，被用作生物杀虫剂防治多种农林植物害虫。近年发现它也是根际微生物群落的一员，且有证据表明它内生于一些植物的根组织中，具有促进植物生长、拮抗植物病原菌、诱导植物抗性等作用。本文着重综述绿僵菌根际作用和植物内生性研究进展，从对植物的直接作用角度，了解其田间生态适应性及与植物的互作关系，以拓展昆虫病原真菌作为植物保护剂的认识，有助于根据生态学特点制定未来的生物防治应用策略。

关键词 绿僵菌； 植物内生真菌； 根际定殖； 真菌-植物互作； 植保多功能

中图分类号： S476 **文献标识码**： A **DOI**： 10.16688/j.zwbh.2022215

Multiple association of *Metarhizium* with plants and the application potential in plant protection

NONG Xiangqun*， WANG Guangjun*， CAI Ni， LIU Rong， 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 *Metarhizium* spp., as well-known entomopathogen fungi, have been used as biological insecticides to control a variety of agricultural and forestry pests. In recent years, it has been found that they are also members of the rhizosphere microbial community, and proved being endophyte in the root tissues of some plants. They can promote plant growth, antagonize plant pathogens and induce plant resistance. In this paper, the research progress on rhizosphere interaction and plant endogeneity of *Metarhizium* was reviewed. From the perspective of direct effects on plants, the ecological adaptability and interaction with plants were explained, so as to expand the understanding of entomopathogenic fungi as plant protective agents and help to develop future bio-control strategies based on their ecological characteristics.

Key words *Metarhizium*； endophytic fungi in plant； rhizosphere colonization； fungus-plant interaction； multifunctional potential

自从 1879 年俄国学者 Metchnikoff 成功地将绿僵菌用于田间防治金龟子[1]，绿僵菌属 *Metarhizium* 就成为了昆虫病原真菌的典型代表被广泛知晓，并作为模式菌激起研究热点。其寄主范围、地理分布、昆虫致病性及致病机理等方面研究多有报道。至今，作为重要的生物防治资源，已在多种农林害虫的绿色防控，减少或替代化学杀虫剂使用中发挥积极作用。

然而，随着研究的不断深入，发现绿僵菌也是一种可与植物直接交互作用的真菌，已证实其可栖息于植物根际和植物内部。近二十年来，有关绿僵菌与植物的相互关系及互作机理的研究逐渐增多，研究人员已逐步洞察到绿僵菌经长期进化形成生态功能定位并与植物建立了多重关系，有的研究涉及绿僵菌的植物内生性与其腐生性、昆虫致病性的关联

收稿日期： 2022-04-20 **修订日期**： 2022-04-23
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 E-mail：农向群 xqnong@sina.com；王广君 wangguangjun@caas.cn

比较,尤其在与植物互惠共生、促进植物生长、诱发植物抗性等方面已取得进展。绿僵菌与植物多方位的关联为绿色植保及植物健康的系统研究提供了新视角,打开了新思路。

1　绿僵菌的生态定位与进化发展

生物物种的营养方式决定其生态地位。从发现绿僵菌感染昆虫到现在,已明确其可侵染鞘翅目、鳞翅目、直翅目、半翅目、双翅目、膜翅目等 30 余科 200 多种昆虫[2-3],无疑是重要的昆虫病原真菌。绿僵菌属由 Sorokin 于 1883 年建立,在还未明确其有性阶段前,绿僵菌被归入半知菌类(fungi imperfecti),隶属于半知菌亚门 Deuteromycotina,丝孢纲 Hyphomycetes,丝孢目 Hyphomycetales,丛梗孢科 Moniliaceae,科级还有丝孢科 Hyphomycetaceae、瘤座孢科 Tuberculariaceae 等不同的记载[4-5]。直到戴氏虫草被报道后,研究者诱发该虫草产生次生子囊孢子,并通过观察次生子囊孢子的微循环产孢,确定了这种虫草的无性型为戴氏绿僵菌 *Metarhizium taii*,至此才认识到绿僵菌与虫草的对应关系[6]。另外,从拟布里特班克虫草 *Cordyceps brittlebankisoides* 中也发现了其无性型绿僵菌,进一步证实了绿僵菌和虫草之间是无性型和有性型的对应关系[7]。根据有性型优先的原则,绿僵菌的系统分类地位应为子囊菌门 Ascomycota、盘菌亚门 Pezizomycotina、粪壳菌纲 Sordariomycetes、肉座菌目 Hypocreales 麦角菌科 Clavicipitaceae。绿僵菌属的物种可根据形态初步识别。分子标记特别是核酸序列分析技术极大地推进了绿僵菌分类系统的发展,目前以 ITS 序列及 *β-tubulin*、*rpb1*、*rpb2* 和 *ef-1α* 的多基因系统进化分析,可有效界定绿僵菌属物种间以及与相似真菌之间的边界[8]。

对采自不同环境和寄主的绿僵菌的分离鉴定及遗传多样性分析表明,绿僵菌经过长期进化,已适应了不同生存环境,形成了多重营养方式。除了寄生各种昆虫,利用其营养迅速增殖种群,还在土壤及植物根际栖息腐生,而且能与植物建立复杂的兼性共生关系,以避免自身遭受侵害、保存种质,同时利于宿主摄取营养和抵御病原[9-10]。这种广适性演化及生态功能引发了研究者的极大兴趣。

绿僵菌的多重生活方式是其长期适应多变环境的进化结果。尽管人们对绿僵菌能够定殖于植物根际并能栖息于植物体内发现较晚、研究较少,对其昆虫致病性发现更早、研究更多,但是进化研究表明,绿僵菌是从与植物共生的真菌进化而来的,其昆虫致病性是其在离开植物独立宿存后获得的感染和杀死昆虫的能力[11]。根据系统发育分析,绿僵菌与草内共生真菌麦角菌属 *Claviceps* 和香柱菌属 *Epichloe* 真菌同源性最高[12]。此外,比较基因组分析表明,与动物病原体相比,绿僵菌与植物内生菌和植物病原体的关系更密切,而且相比类酵母菌、腐生性植物病原菌、内生性植物病原菌,绿僵菌谱系与植物内共生的一种香柱菌 *Epichloe festucae* 谱系分化得更晚(大约 100 MYA)[13]。绿僵菌基因组中有大量的植物降解酶基因,也支持其由植物共生真菌进化的观点[14];至于绿僵菌的昆虫致病性基因,可能是从涉及植物定殖相关基因或其他基因水平转移的选择而来[14]。而进化的真菌可能会在界间"跳跃",从植物到昆虫,再回到植物或仍然保持祖先的植物共生能力[15-16],体现为生活方式的多样性。对进化的理解有助于我们探索绿僵菌-昆虫-植物的相互关系,尤其是作为昆虫病原的绿僵菌直接与植物发生根际联络或内共生的互惠关系。

2　绿僵菌的根际生存和促进植物生长作用

植物根际(rhizosphere)一般指根表至附近几毫米范围内的在理化和生物特性上不同于原土体的土壤微域。在确认绿僵菌为昆虫病原体后一个多世纪,才有了绿僵菌根际适应(rhizosphere-competent)能力的报道。2002 年首次报道从甘蓝根际土壤中分离、鉴定出了金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*,并发现根际土壤内的绿僵菌数量是根际外土壤的 4 倍;将绿僵菌释放到甘蓝田间 6 个月后,其在根际土壤中的存活数量比在根外围土壤(bulk soil)中高 100 倍,因此认为根际是绿僵菌的庇护所,根际因子对绿僵菌持续存活有促进作用[17]。该结论后续在相似的试验中陆续得到证实。将标记绿色荧光蛋白基因 *gfp* 的金龟子绿僵菌包衣玉米种子,播种后对金龟子绿僵菌的根际定殖及其数量动态监测表明,根际土壤中的绿僵菌数量极显著高于非根际土壤,并且在播种后 10 d 数量达到最大,20～30 d 内数量相对稳定;而非根际土壤中的绿僵菌数量随时间延长明显降低,证明了绿僵菌孢子在玉米根际的高活力和定殖效果[18]。

像大多数昆虫病原真菌一样，绿僵菌具有一定的腐生能力。在离开昆虫寄主的阶段会面临严峻的生存考验，既要获取营养维持生存，又要抵御不良环境因子。土壤是各种微生物的庇护场所，可避免紫外线辐射、缓冲温度和水分的急剧变化等。根际是土壤中碳元素的富集区域，因为植物代谢的碳有10%～40%以根分泌物、黏液、溶解物和脱落细胞的形式转移到土壤中[19-20]。这些碳源可以被各种腐生微生物利用，一些分泌物可能刺激或抑制微生物活性和种群的发展。绿僵菌能否利用土壤或根际的碳源至关重要。将绿僵菌掺入到含有泥炭、树皮的基质中栽培云杉 *Picea abies*，在 342 d 内 17 次采样监测绿僵菌种群数量，结果表明在基质中绿僵菌种群数量保持在 10^5～10^6 cfu/g，其在根际的存活数量显著高于在根外围的存活数量[21]。将绿僵菌与土壤混拌后用于池栽花生，每 15 d 采样检测，发现施用的绿僵菌种群数量在初期快速下降，随后逐渐稳定或有所恢复，根际种群相对于根外围的种群恢复较早、恢复程度更高，且有从根外围向根际延展生长的趋势，表明根际有利于绿僵菌种群宿存和增殖[22]。

绿僵菌在自然界中存在物种多样性和生态位差别，因此不同种类或菌株表现出根际定殖能力的强弱和宿主偏好不同。在对安徽省广德市笄罩山毛竹 *Phyllostachys edulis* 根际绿僵菌组成及其生态位分布调查时，从不同海拔、不同坡向和不同季节采集的毛竹根系中共分离到 4 种绿僵菌，经形态分类与分子鉴定，分别是罗氏绿僵菌 *M. robertsii*、平沙绿僵菌 *M. pingshaense*、贵州绿僵菌 *M. guizhouense* 和一个待定种 *Metarhizium* sp.，其中罗氏绿僵菌为优势种，广泛分布于海拔 100 m 处，且在夏季种群数量达到高峰；待定种则主要分布于海拔 400 m 地带；4 种绿僵菌的时空生态位宽度和重叠度均呈现明显的季节变化，总体上春季的空间生态位宽度最高，其中贵州绿僵菌的时间生态位宽度最低，待鉴定种的时间生态位宽度最高，而且贵州绿僵菌和待定种的空间生态位重叠度较高，在夏、秋季，平沙绿僵菌和罗氏绿僵菌的空间生态位重叠度最高，在冬季，待定种和平沙绿僵菌空间生态位重叠值最高[23]。从加拿大安大略省两个地点采集的 200 多份草、野花、灌木和乔木的根系样本中分离到 102 个绿僵菌菌株，按植物类型划分得到的分离检出率在 35%～63%，野花根系检出最多。经鉴定，这些菌株归属于 3 个物种，即罗氏绿僵菌、褐色绿僵菌 *M. brunneum* 和贵州绿僵菌。其中从草的根际只检测到罗氏绿僵菌；野花根际同时检测到 3 种绿僵菌，而且只有当存在罗氏绿僵菌时才同时出现其余 2 种；贵州绿僵菌在 3 种乔木（主要是糖枫 *Acer saccharum*）的根际中单独出现；而褐色绿僵菌可单独地在灌木和乔木的根际中发现[24]。将 3 株罗氏绿僵菌、3 株金龟子绿僵菌、3 株褐色绿僵菌和 1 株蝗绿僵菌 *M. acridum* 的分别接种玉米，测试它们在根际的定殖能力，结果显示 10 个菌株均能在玉米根部定殖，但蝗绿僵菌菌株和 1 个褐色绿僵菌菌株的定殖能力很弱[25]。

绿僵菌不只是单向地从根际汲取碳源营腐生生活，同时也在植物摄取营养或在抵抗寄生物侵害和植食性动物啃食方面起积极作用。上述报道的在玉米根际定殖力较强的 8 个绿僵菌菌株都能显著促进植株的营养生长，其中褐色绿僵菌 Mb820 和金龟子绿僵菌 Ma939 处理种子后 2 周时玉米叶领数较对照增加 42.8%[20]。此外，还有不少绿僵菌促进植物生长的报道，例如，在花生播种时用金龟子绿僵菌分生孢子悬浮液浸种处理，4～10 d 内，花生主根长度和侧根数显著高于对照；绿僵菌密度在前 8 d 呈波动趋势，且处理植株的主根长度和侧根数相对于对照的比值与绿僵菌存活密度有显著的相关性[26]。花生种植期间，分别于播种（0 d）、幼苗（15 d）、初花（30 d）、盛花（45 d）、结荚（60 d）期施用金龟子绿僵菌，对根际绿僵菌数量监测结果表明，初花期施用绿僵菌能够最好地保持其种群数量，并且在施菌后 30～45 d 绿僵菌数量显著上升，此期间正值花生根系快速发育时期；初花期施用还能导致蛴螬死亡，致死率最高可达 72%，而蛴螬减退率与花生产量显著相关，因此最终减少了荚果受损率，提高了花生产量[27]。值得注意的是，用褐色绿僵菌处理大豆种子后播种，在植株茎中检测到绿僵菌，而其在茎中的内生增加了植株对大豆蚜 *Aphis glycines* 的敏感性，植株上蚜虫种群数量有所增加[28]，此现象最终是否对植物健康产生显著的负面影响值得关注，也提示虫-菌-植物之间可能存在微妙关系，需要深入探讨。

绿僵菌在根际定殖过程中，还可通过影响根际微生物群落而对植物产生间接作用，这种作用主要是通过拮抗、竞争或排斥植物病原体而促进植物健康生长。室内试验显示，能够在玉米、棉花根际定殖

的 3 株金龟子绿僵菌对几种重要植物根系病菌均有显著抑制作用。在对峙培养时,绿僵菌与病原菌菌落之间形成明显的拮抗隔离带,5 d 时对棉花枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*、小麦纹枯病菌 *Rhizoctonia cerealis* 的生长抑制率分别为 43.2%～49.5%、41.1%～45.6%,对玉米茎基腐病菌 *Fusarium moniliforme* 和 *Pythium aphamideimatum* 的生长抑制率为 65.3%～69.2%;对油菜菌核病菌 *Sclerotinias clerotiorum* 3 d 时的抑制率为 28.3%～34.2%,且在 7 d 时对峙菌落间形成明显的抑菌圈,病原菌基本上不能形成菌核,菌丝变褐老化。采用 10^6 cfu/mL 金龟子绿僵菌分生孢子悬浮液处理,5 d 时对棉花枯萎病菌、小麦纹枯病菌的菌丝生长抑制率可分别达到 70%和 65%;滤除细胞的绿僵菌发酵液处理也能够抑制这 2 种病原菌的菌丝生长,抑制率分别为 57.0%～59.9%和 48.5%～58.6%,并抑制分生孢子或菌核的形成[29]。在与菜豆根腐病菌 *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* 的对峙培养试验中,罗氏绿僵菌能够显著抑制病原菌生长,相对抑制率达到 60%;同时罗氏绿僵菌的无细胞培养滤液对菜豆根腐病菌孢子萌发抑制率达到 83%,且滤液中的抑制物具有热稳定性;当接种菜豆根腐病菌时,有绿僵菌定殖的菜豆植株比对照植株更健壮,病情指数更低[30]。

田间施用绿僵菌会显著影响土著微生物种群的消长和群落结构变化。花生播种时施用金龟子绿僵菌,并对整个生长季的微生物种群变化进行监测,结果表明金龟子绿僵菌对根际微生物的影响大于对根外围微生物的影响,其中对放线菌的影响最大,真菌次之,对细菌影响最小。由于拮抗抑制作用,根际放线菌种群消长周期出现与对照完全相反的情形,且 45 d 时回落至低点后不再回升;对真菌影响也较大,初期花生根际真菌种群的下降速度减缓,与对照相比,到达谷底的时间推迟了 15 d,但回升速度加快,到达峰值时间提前了 15 d,但峰值降低了 1/3;在施菌后 15～30 d 的幼苗至初花期土壤微生物群落结构变化最为显著,在盛花期后,3 类微生物群落结构逐渐恢复趋近原来状态[31]。进一步探讨土著微生物种群变化与绿僵菌种群及植株发育相关性可能会获知更多重要信息,包括绿僵菌影响土著微生物的主要物种及其种群变化,影响根际土壤元素、酶等组分变化及其对植株摄取氮、钾等营养物调节发育作用等。

3　绿僵菌植物内生性及定殖作用

植物内生真菌(endophytic fungi)是指整个生活史或部分时段在植物健康组织内生存,并不会引起宿主明显病症的一类真菌(https://encyclopedia.thefreedictionary.com/endophytic)。绿僵菌在田间土壤中并非随机分布,而是趋向于在植物根际宿存、增殖,说明其具有与植物共生的潜力。在确定绿僵菌根际定殖、促进植物发育功能后将近十年,Elena 等[32]于 2011 年验证了绿僵菌的内生性。研究者将金龟子绿僵菌 3 个菌株的分生孢子分别接种到番茄幼苗基部附近,处理 21 d 后从植株根和芽都能分离到这 3 个菌株,叶片中也分离到 1 个菌株,证明了绿僵菌的内生性,并说明其能够在植物内部移动。此后,陆续有绿僵菌属物种在不同农作物中定殖和促进增长的报道,包括菜豆[33]、大豆[34]、玉米[35]、小麦[36]、木薯[37]、蚕豆[38]、马铃薯[39]、谷物黑麦和奥地利冬豌豆[40]等。这些报道主要是通过根表接种或基质接种处理后,采用组织分离培养法分离菌落并鉴定,或通过真菌特异性染色(棉蓝染色)根组织切片的方法来鉴定。Cai 等采用 eGFP 标记的绿僵菌菌株处理玉米根部基质,通过激光共聚焦显微镜观察,从处理后 14 d 的根中捕捉到荧光菌丝的清晰图像,可见菌丝不仅在根表增殖缠结,还进入了根组织,沿细胞外的间隙纵向延伸,甚至可增殖成菌丝团,直接可视化证明了绿僵菌的植物内生性[41]。

与对昆虫致病能力类似,绿僵菌在植物组织中的定殖能力因其种类和株系、寄主物种和环境条件(如紫外线辐射、温度、湿度)而异[42]。将 10 个具有一定昆虫致病力的分属于 9 个种的绿僵菌菌株接种于不同供试植物,20 d 内所有菌株均能在 2 种单子叶植物玉米和大麦根中内生定殖,尽管菌株的定殖能力不同,但其定殖能力与它们对昆虫的寄生能力无明显关联;在 4 种双子叶植物中,只在青椒中发现绿僵菌成功定殖,而在菜豆、豌豆和番茄中未检测到绿僵菌内生定殖,说明绿僵菌对寄主植物存在偏好性,更倾向于单子叶植物宿主[16]。

绿僵菌与许多内生真菌一样,在寄主植物组织中表现出根部优先定位。在加拿大 3 个野外地点随机采集禾本科和非禾本科植物,从 97 株不同植物的根、下胚轴、茎和叶中分离到了绿僵菌、球孢白僵菌

Beauveria bassiana 及食线虫的厚垣普可尼亚菌 *Pochonia chlamydosporium*，其中绿僵菌中 95%为罗氏绿僵菌，几乎都定殖于植物的根部，只有不到 1%定殖于下胚轴内，在茎和叶中均未发现绿僵菌[43]。另外，对绿僵菌在大豆和玉米上的定殖模式进行分析后发现，作为内生真菌，绿僵菌优先定殖于下胚轴（hypocotyl），而在根表和根际定殖，也最常见于下胚轴附近的区域[44]。这些结果与绿僵菌会优先感染近地下植物组织（即根系）区域的昆虫是一致的，反映出绿僵菌在土壤中能够“因地制宜”地转换植物内生或昆虫寄生的生活方式。尽管自然条件下绿僵菌都限于在宿主植物根系中，但通过某些接种方法，如叶面喷洒、茎注射和种子浸泡，也能观察到其在植物地上组织中定殖[45-47]。

4 绿僵菌与植物互作及共生机理

绿僵菌在植物根际和根内定殖以及与植物的互作机理研究虽取得一定进展，但仍非常有限。目前的研究表明，绿僵菌可在植物组织中定殖并与宿主持续共生，但并未发现其对植物具有类似昆虫致病性那样的具体特征或机制。然而，其定殖和共生过程可能涉及大量基因和小分子，这些基因和小分子有助于其在根际定殖、根上黏附、与宿主植物之间的交流及调节宿主的防御反应等[46]。

绿僵菌的根际生存能力除了取决于绿僵菌物种或菌株自身特性外，植物根分泌物是影响其根际生存的重要因子。在豇豆根分泌物中，8 个具有昆虫广谱致病性的金龟子绿僵菌菌株萌发率表现出极显著差异，并与根分泌物浓度相关。3 个根际定殖能力较强的菌株在 1 mg/mL 浓度下的萌发率达到 76.6%～93.9%，根际定殖能力弱的菌株萌发率只有 6.5%；在 0.01 mg/mL 的极低浓度下，根际定殖能力最强的菌株 2575# 仍能保持 88.6%的萌发率[48]。进一步通过微阵列基因表达分析，发现菌株 2575# 在 12 h 内有 29 个基因上调表达，21 个基因下调表达。上调的基因涉及碳水化合物代谢、脂质代谢、辅助因子和维生素、能量代谢、蛋白质水解、细胞外基质/细胞壁蛋白、转运蛋白、DNA 合成、性周期和应激反应。然而，上调基因中有 41.3%是假设基因或孤立基因，说明许多尚未鉴定的基因参与了腐生相关的功能。值得关注的是，在已知蛋白的编码基因中，参与对昆虫致病的类枯草菌素（subtilisin）蛋白酶 *Pr1A* 基因、对植物表面附着起重要作用的黏附素 *MAD2* 基因也表现出对根分泌物的上调反应，说明绿僵菌具有受根分泌物诱导的根际定殖基因[49]。

关于绿僵菌从根际向根组织中转移定殖，通过带有 *gfp* 标记的罗氏绿僵菌得到了证明。将 *gfp* 标记的罗氏绿僵菌孢子接种于土壤后，在激光共聚焦显微镜下观察到孢子在柳枝稷 *Panicum virgatum* 和菜豆根表附着、萌发和定殖；并且在孢子萌发前 1～2 d 就出现植物根毛细胞增殖；无细胞的绿僵菌滤液并不能刺激根毛的增殖；施菌后 60 d，可检测到带 *gfp* 标记的菌丝体在菜豆根皮层细胞内和细胞间隙聚集，对植物没有明显的损害[33]。

绿僵菌对植物的附着和侵入是由根际生存到根内共生的联结过程。实际上，根际生存、根表定殖到根内定殖并非孤立事件，也没有明显界限，而是相互关联的过程。只是为了便于观察和研究描述而人为划分的阶段或状态。因此，根际互作或内生的机理可能是紧密相关的，存在共同的、连续相关的或远程调节的分子反应。其从腐生向植物内生，或向作为昆虫病原的生活方式转换可能涉及很多基因，例如参与降解植物宿主细胞壁或昆虫角质层成分的基因。已经发现绿僵菌有 2 种与其侵入昆虫和定殖植物相关的黏附素蛋白 MAD1 和 MAD2。在大豆根分泌物中，金龟子绿僵菌的 *mad2* 表达明显增高，且与其在富营养的人工培养基上生长的表达相一致；而绿僵菌在昆虫表皮或淋巴液中生长时主要表达 *mad1*，间接证明了绿僵菌根际营养方式和与植物共生互作可能与 MAD2 相关[50]。进一步研究证明，绿僵菌在昆虫或植物表皮附着时 MAD1 或 MAD2 分别上调表达，意味着绿僵菌进化出了适于昆虫寄主和与植物宿主共生的机制[51-52]。并且相对于 MAD1，MAD2 有更多的多态性变化，说明是它推动了绿僵菌的适应性进化，并参与了对植物的内共生定殖[53]。

为了证明黏附素 MAD1 和 MAD2 的作用，研究人员进行了黏附素体外表达和基因敲除突变。以罗氏绿僵菌的 *mad2* 敲除株接种柳枝稷，与野生型对照相比，根毛的增殖显著减缓[33]。金龟子绿僵菌的 *mad2* 敲除后，其生长受到显著抑制，表现为孢子萌发率显著降低，萌发中时比野生型菌株长 5.47 h，12 h菌丝生长长度只有野生型菌株的 77.8%，12 d

的产孢量比野生型菌株减少 33.3%。同时,敲除株对洋葱内表皮的黏附力明显降低,但对蝗虫后翅的黏附性无显著影响[54]。相似地,另一个黏附素基因 *mad*1 敲除后,金龟子绿僵菌的生长也受到显著抑制,与野生型菌株相比,产孢量降低了 43.7%,分生孢子萌发中时延长了 13.4 h,而且对家蚕的半致死时间 LT_{50} 延长了 7.6 d[55]。

为了研究绿僵菌附着和定殖过程中宿主植物的分子响应,分析了绿僵菌处理的花生转录组,共有 164 个基因发生显著差异表达,其中 16 个上调、148 个下调,主要涉及氧化还原过程、转运过程和代谢过程等 3 方面,从多方向与防御调控相关的组合通路相关联,另外还有一些信号交叉或基因互作,如苯丙氨酸代谢与水杨酸合成、脱落酸合成与类胡萝卜素的合成、氮转运蛋白与硝酸盐还原酶以及铁的转运和代谢等;下调表达基因最富集的两条途径是植物-病原菌相互作用的信号转导和植物激素茉莉酸信号通路[56]。在转录组分析的基础上,通过 mRNA 转录及蛋白表达水平的验证,并与植物病原菌尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 的侵染过程相比较,发现绿僵菌对植物的成功定殖和侵染过程类似于尖孢镰刀菌,二者都显著抑制了寄主的基础防御反应,但植物只对尖孢镰刀菌启动了细胞程序性死亡的分子响应即过敏反应,而绿僵菌的诱导抗性反应相对较弱。此外,绿僵菌还诱导了植物生长相关基因或其与植物共生相关基因的显著上调表达,包括共生受体基因(*SYMRK*)、钙信号解码相关基因(*CaM*、*CCaMK* 和 *DELLA*)、脂质氮素转运相关基因(*LTP*1、*NRT*24、*ABCC*2)、木质素合成相关基因(*F*6*H*1)等,表明宿主植物可能主动启动和协调了与绿僵菌建立共生的相关程序[57]。再对比 *mad*2 敲除株处理的花生中上述相关基因的转录表达,除了 *SYMRK* 转录水平仍有一定的上调,*CaM*、*CCaMK* 和 *DELLA* 基因均表现为显著下调,基因缺失的负向表现说明了黏附素 MAD2 在绿僵菌与花生互作早期触发了花生共生基因的积极响应[54]。另外,MAD1 也参与绿僵菌对花生的诱导响应,用绿僵菌 *mad*1 敲除株处理花生,显示花生免疫类基因(*CNGC*1、*PCD*4)、抗病基因(*SWEET*10)及相关转录因子(*WRKY*41、*MY*86)的转录水平显著上调,而钙调素(*CML*5、*CLM*19)的转录表达受到明显抑制,说明 MAD1 参与抑制植物抗性级联、减弱过敏反应,同时增强共生信号的传导,协同促进绿僵菌在花生根组织中的定殖[55]。进一步用体外表达的 MAD1 蛋白处理花生根,发现 MAD1 蛋白处理后 6 h 时花生根上膜受体基因 *CERK*1 和 *RPK* 的识别响应被激活,同时抑制花生免疫级联基因(*MAPK*、*CDPK*、*MMK*1)及防御相关基因(如 *PTi*1、*RML*1*A*)的表达,以助于绿僵菌定殖;随后诱导花生细胞壁整合基因 *SCW*1 上调表达,参与根上受损细胞壁的修复与重建,促进绿僵菌与花生共生关系的建立[58]。

在共生界面(symbiotic interface)方面,可从绿僵菌与植物的营养互惠和分子调控来认识。自然界中,绝大部分的碳水化合物来自植物的光合作用,而大多数植物需要通过固氮菌或通过微生物对动植物残体或代谢物的分解来获取氮,植物与微生物之间形成了相互依赖甚至密切共生的关系。绿僵菌以腐生、昆虫病原或植物内生菌的多重方式存在于生态系统中,不仅可以获取植物源的碳和昆虫源的氮,还可能将其植物内生能力和对昆虫的致病能力结合在一起,提供一种通过菌丝向植物宿主转移氮的有效途径。此氮转移途径已经通过同位素标记的精巧试验得到证实。研究人员向大蜡螟 *Galleria mellonella* 注射了同位素标记的 ^{15}N,在虫体与供试植物菜豆和柳枝稷隔离的条件下,跟踪检测到罗氏绿僵菌利用土壤微环境将昆虫的 ^{15}N 转移到植株中转化为氨基酸的过程[59]。这一发现表明,植物在昆虫-真菌-植物三方互作中主动获取氮源可能性超越了人们以前的认知,也显示了绿僵菌在氮循环转移过程中的重要生态角色。

植物与绿僵菌的共生对绿僵菌本身也是有益的。绿僵菌能够将昆虫来源的氮转移给宿主植物,作为回报,绿僵菌也接受了植物的光合产物即固定碳。这一过程经同位素示踪试验也得到了证实。研究者通过在密闭的植物生长室中加入同位素标记的 $^{13}CO_2$,跟踪了空气中的 ^{13}C 转化,通过核磁共振(NMR)分析,发现 ^{13}C 与扁豆的光合产物结合,包括果糖、葡萄糖和蔗糖;在植物根部基质接种罗氏绿僵菌 21 d 后,检测到绿僵菌的根际定殖和根内定殖,并通过 NMR 在根提取物中检测到 ^{13}C 结合的几丁质和海藻糖这二种真菌特有的碳水化合物,而未接种绿僵菌的根中没有 ^{13}C 的几丁质和海藻糖。这种绿僵菌从植物获取碳源的现象与土壤里有没有昆虫

无关，也与是否已经从昆虫体内获得昆虫氮后转移给植株无关，说明绿僵菌从植物获取碳源已经成为一种稳定机制，也表明营养物质的相互交换可能促进了真菌-植物关系的稳定[60]。由此可见，绿僵菌与宿主植物之间的互惠关系并非是独立的，而是与其对昆虫的致病性密切相关，对昆虫致病机制的进化可能是绿僵菌的一种适应性特征，从而使得绿僵菌与植物之间的共生关系更加稳定牢靠，有利于绿僵菌的种质续存。

至于绿僵菌如何通过共生界面交换获得植物碳源，研究人员发现了一个重要的寡糖转运子（*Metarhizium raffinose* transporter，MRT）基因，它对绿僵菌摄取棉子糖和蔗糖起关键作用。敲除 *Mrt* 基因的罗氏绿僵菌菌株在根系分泌物中生长不良，在根际定殖能力大大降低。MRT 是蔗糖和半乳糖苷的转运子，干扰 MRT 的表达可导致菌株在蔗糖和半乳糖培养基上的生长大大减少或完全不生长，但不影响其在完全由葡萄糖亚基组成的单糖或寡糖培养基上的生长；同时，*Mrt* 基因只在半乳糖苷和蔗糖的条件下上调表达。进一步通过 *Mrt* 启动子控制下表达绿色荧光蛋白基因，证实了 *Mrt* 基因在草根附近的胚芽中表达，但在根外围土壤中不表达。这些试验证明了绿僵菌摄取特定的寡糖碳源对于真菌-植物共生关系的建立至关重要，而 MRT 转运是一条植物源碳水化合物向真菌转移的潜在途径[61]。

5 讨论与展望

虽然微生物与植物互作和共生现象很常见，并已有较多的研究报道，但相关机理至今仍未完全清楚。对绿僵菌与植物互作及共生关系的认知更为有限，还需要更多的研究。对其生态作用和机理的推测，一方面可从其他微生物如根瘤菌、丛枝菌根真菌与植物的共生关系中得到一些提示；另一方面，对绿僵菌的昆虫致病机理已有较深入了解，而其对昆虫的致病性是由植物内生性进化出的一种适应特征，那么或许可以结合其作为昆虫病原的致病机理，追溯其中保留的植物内生性的痕迹来做出某些判断。可能推及的共同认识是，经过长期共同进化，微生物（如根瘤菌、丛枝菌根真菌等）与植物能够在植物根际或根表产生可相互识别的分子模式，彼此也具备相应的受体，植物受体识别微生物分子模式后激活细胞膜蛋白，并使 Ca^{2+} 或其他离子通道开闭变化，向胞内传递信号，触发胞内各种分子响应，包括转录重编程、防御反应基因的上调或下调表达，营养代谢路径的调控等，使宿主出现兼容和利于共生的状态。由于进化，绿僵菌与植物相互识别的分子模式可能有多种类型，例如不同的寡糖、不同的肽段等，各物种的分子模式存在相对特异性。另外，绿僵菌对昆虫的致病性是其最利于增殖繁衍的成功进化，而与植物的共生是兼性的，只是其多重生活方式之一，这种兼性共生可能是保持了祖先的植物共生能力，也可能是界间“跳跃”从昆虫返回植物[15-16]，加上有其他微生物和/或真菌的竞争，这种兼性共生在植物中生存量通常较少或者有短暂性[62]。至今尚未发现像根瘤或菌根那样的共生表型，也还未确定绿僵菌与植物共生的标志物质或分子，因此目前还主要从现象与功能的层面来分析阐释。

无论如何，绿僵菌的植物根际定殖能力和与植物的内共生关系已经明确，并已证实这种关系是互惠的。对于植物，绿僵菌具有促进植物生长发育、增强植株系统抗性、拮抗植物病原等益处；对于绿僵菌，有利于在无昆虫寄主阶段保持种群生存延续，甚至在极端不利环境下保存种质。这种由进化形成的独特多功能生态位蕴藏着重要的植物保护潜力。不仅可以利用绿僵菌对昆虫的致病性作为有效杀虫剂，利用其腐生性进行大规模的人工培养和发酵生产，还可以挖掘和利用其在植物根际定殖的能力和与植物共生的关系，维护田间长期的有效控害种群，建立有利于自然调控、促进植物健康的生态体系。具体地，在绿僵菌的应用策略上，把它纳入农业系统中的一员，在应用实践中，通过维护环境因子最大限度地保护其种群活力，发挥其寄生害虫、根际/根内定殖促进植物生长、调节生态的潜力，实现综合植物保护作用。为此，可在选择和构建生防菌株时，除了注重对害虫的致病力，还应考察其对环境的生存适应能力；除了在虫害发生时释放大量菌剂，还可在种植早期低剂量引入，并通过优选助剂和农事操作，保护和促进绿僵菌种群在根际定殖，发挥其促进根系发育、屏蔽根系害虫的作用，或许在拮抗某些植物病原上也有潜力；进一步研究绿僵菌的植物内共生作用，明确其诱导植物抗性机理，还可能通过促进与植物内共生，构建对病虫害抗性的植物品系或栽培方法。未来在揭示植物-绿僵菌-昆虫之间互作关系机

制的基础上,将可能实现绿僵菌生防菌剂的多方位的综合利用。

参考文献

[1] METCHNIKOFF E A. Zur lehre über insektenkrankenheiten [J]. Zoologischer Anzeiger, 1880, 3(3):44 - 47.

[2] 蒲蛰龙. 昆虫病理学[M]. 广州: 广东科技出版社, 1991.

[3] SKINNER M,PARKER B L,KIM J S. Role of entomopathogenic fungi in integrated pest management [M]// ABROL D P. Integrated pest management: current concepts and ecological perspective. San Diego, California: Academic Press, 2014.

[4] 蒲蛰龙, 李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1996.

[5] 周德庆,徐士菊. 微生物学词典[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2005.

[6] 梁宗琦,刘爱英,刘杰麟. 虫草一新种及其绿僵菌无性型[J]. 菌物学报,1991, 10(4): 257 - 262.

[7] LIU Zuoyi, LIANG Zongqi, WALLEY A J S, et al. *Cordyceps brittebankisoides*, a news pathogen of grubs and its anamorph, *Metarhizium anisopliae* var. *majus* [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2001, 78(3): 178 - 182.

[8] KEPLER R M, HUMBER R A, BISCHOFF J F, et al. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics [J]. Mycologia, 2014, 106(4): 811 - 829.

[9] VEGA F E. Insect pathology and fungal endophytes [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2008, 98(3): 277 - 279.

[10] WANG J B, ST LEGER R J, WANG C. Advances in genomics of entomopathogenic fungi [J]. Advances in Genetics, 2016, 94: 67 - 105.

[11] STONE L B L, BIDOCHKA M J. The multifunctional lifestyles of *Metarhizium* : evolution and applications [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104: 9935 - 9945.

[12] SPATAFORA J W, SUNG G H, SUNG H M, et al. Phylogenetic evidence for an animal pathogen origin of ergot and the grass endophytes [J]. Molecular Ecology, 2007, 16: 1701 - 1711.

[13] GAO Qiang, JIN Kai, YING Shenghua, et al. Genome sequencing and comparative transcriptomics of the model entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. acridum* [J/OL]. PLoS Genetics, 2011, 7(1): e1001264. DOI: 10.1371/journal. pgen. 1001264.

[14] SCREEN S E, ST LEGER R J. Cloning, expression, and substrate specificity of a fungal chymotrypsin evidence for lateral gene transfer from an actinomycete bacterium [J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275: 6689 - 6694.

[15] HUMBER R A. Evolution of entomopathogenicity in fungi [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2008, 98: 262 - 266.

[16] MOONJELY S, BIDOCHKA M J. Generalist and specialist *Metarhizium* insect pathogens retain ancestral ability to colonize plant roots [J]. Fungal Ecology, 2019, 41: 209 - 217.

[17] HU Gang, ST LEGER R J. Field studies using a recombinant mycoinsecticide (*Metarhizium anisopliae*) reveal that it is rhizosphere competent [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(12): 6383 - 6387.

[18] 杨震元, 赵军, 郝蕾蕾,等. 用 *gfp* 基因标记法研究金龟子绿僵菌在玉米根际的定殖动态[J]. 中国生物防治,2009, 25(3): 215 - 219.

[19] ANDREWS J H, HARRIS R F. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces [J]. Annual Review of Phytopathology, 2000, 38: 145 - 180.

[20] BARDGETT R D. The biology of soil: A community and ecosystem approach [M]. New York: Oxford University Press, 2005.

[21] BRUCK D J. Ecology of *Metarhizium anisopliae* in soilless potting media and the rhizosphere: implications for pest management [J]. Biological Control, 2005, 32: 155 - 163.

[22] LIU Xun, NONG Xiangqun, WANG Qinglei, et al. Persistence and proliferation of a Chinese *Metarhizium anisopliae* s. s. isolate in the peanut plant root zone [J]. Biocontrol Science and Technology, 2016, 26(6): 746 - 758.

[23] 陈名君, 侯囡嵩, 林俨, 等. 广德市笄罩山毛竹根际绿僵菌物种多样性及生态位研究[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(1): 117 - 123.

[24] WYREBEK M, HUBER C, SASAN R K, et al. Three sympatrically occurring species of *Metarhizium* show plant rhizosphere specificity [J]. Microbiology, 2011, 157: 2904 - 2911.

[25] 廖兴刚, 胡明瑜, 孟泽彬, 等. 不同绿僵菌菌株在玉米根际的定殖及对玉米生长的影响[J]. 西南农业学报, 2021, 34(8): 1657 - 1662.

[26] LIU Shaofang, WANG Guangjun, NONG Xiangqun, et al. Entomopathogen *Metarhizium anisopliae* promotes the early development of peanut root [J]. Plant Protection Science, 2017, 53(2): 101 - 107.

[27] LI Xingjia, LIU Xun, NONG Xiangqun. Peanut early flowering stage is beneficial to *Metarhizium anisopliae* survival and control of white grub larvae [J/OL]. 3 Biotech, 2020, 10(4): 188. DOI: 10.1007/s13205-020-02178-5.

[28] CLIFTON E H, JARONSKI S T, COATES B S, et al. Effects of endophytic entomopathogenic fungi on soybean aphid and identification of *Metarhizium* isolates from agricultural fields [J/OL]. PLoS ONE, 2018, 13(3): e0194815. DOI:10.1371/journal. pone. 0194815.

[29] 齐永霞. 白僵菌和绿僵菌在植物根际的定殖及对几种土传植物病原真菌的抑制作用研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2011.

[30] SASAN R K, BIDOCHKA M J. Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2013, 35(3): 288 - 293.

[31] 李兴佳，冯晓洁，农向群，等. 花生田施用绿僵菌对土壤微生物群落的影响[J]. 中国生物防治学报，2019，35(6)：867－875.

[32] ELENA G J，BEATRIZ P J，ALEJANDRO P，et al. *Metarhizium anisopliae*（Metschnikoff）sorokin promotes growth and has endophytic activity in tomato plants [J]. Advances in Biological Research，2011，5(1)：22－27.

[33] SASAN R K，BIDOCHKA M J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii*（Clavicipitaceae）is also an endophyte that stimulates plant root development [J]. American Journal of Botany，2012，99(1)：101－107.

[34] KHAN A L，HAMAYUN M，KHAN S A，et al. Pure culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograms soybean to higher growth and mitigates salt stress [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology，2012，28(4)：1483－1494.

[35] LIAO Xinggang，O'BRIEN T R，FANG Weiguo，et al. The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots [J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2014，98(16)：7089－7096.

[36] BEHIE S W，BIDOCHKA M J. Ubiquity of insect-derived nitrogen transfer to plants by endophytic insect-pathogenic fungi：an additional branch of the soil nitrogen cycle [J]. Applied and Environmental Microbiology，2014，80(5)：1553－1560.

[37] GREENFIELD M，GÓMEZ-JIMÉNEZ M I，ORTIZ V V，et al. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation [J]. Biological Control，2016，95：40－48.

[38] JABER L R，ENKERLI J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia fab* a by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* [J]. Biological Control，2016，103：187－195.

[39] KRELL V，UNGER S，JAKOBS-SCHOENWANDT D，et al. Endophytic *Metarhizium brunneum* mitigates nutrient deficits in potato and improves plant productivity and vitality [J]. Fungal Ecology，2018，34：43－49.

[40] AHMAD I，JIMÉNEZ-GASCO M D M，LUTHE D S，et al. Systemic colonization by *Metarhizium robertsii* enhances cover crop growth [J/OL]. Journal of Fungi，2020，6(2)：64. DOI：10.3390/jof6020064.

[41] CAI Ni，WANG Feng，NONG Xiangqun，et al. Visualising confirmation of the endophytic relationship of *Metarhizium anisopliae* with maize roots using molecular tools and fluorescent labeling [J]. Biocontrol Science and Technology，2019，29(11)：1023－1036.

[42] LOVETT B，S T LEGER R J. Stress is the rule rather than the exception for *Metarhizium* [J]. Current Genetics，2015，61：253－261.

[43] BEHIE S W，JONES S J，BIDOCHKA M J. Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria* [J]. Fungal Ecology，2015，13：112－119.

[44] LAHEY S，ANGELONE S，DEBARTOLO M O，et al. Localization of the insect pathogenic fungal plant symbionts *Metarhizium robertsii* and *Metarhizium brunneum* in bean and corn roots [J]. Fungal Biology，2020，124：877－883.

[45] GAVIRIA J，PARRA P P，GONZALES A. Selection of strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*（Ascomycota：Hypocreales）for endophytic colonization in coconut seedlings [J]. Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences，2020，36：3－13.

[46] HU S，BIDOCHKA M J. Root colonization by endophytic insect-pathogenic fungi [J]. Journal of Applied Microbiology，2019，130(2)：570－581.

[47] VEGA F E. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control：a review [J]. Mycologia，2018，110：4－30.

[48] O'BRIEN T R. *Metarhizium anisopliae*'s persistence as a saprophyte，genetic basis of adaptation and role as a plant symbiont [D]. USA：University of Maryland，2008.

[49] PAVA-RIPOLL M，ANGELINI C，FANG Weiguo，et al. The rhizosphere-competent entomopathogen *Metarhizium anisopliae* expresses a specific subset of genes in plant root exudate [J]. Microbiology，2011，157(Pt1)：47－55.

[50] WANG Chengshu，HU Gong，ST LEGER R J. Differential gene expression by *Metarhizium anisopliae* growing in root exudate and host（*Manduca sexta*）cuticle or hemolymph reveals mechanisms of physiological adaptation [J]. Fungal Genetics and Biology，2005，42(8)：704－718.

[51] WANG Chengshu，ST LEGER R J. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects，and the MAD2 adhesin enables attachment to plants [J]. Eukaryotic Cell，2007，6(5)：808－816.

[52] BARELLI L，PADILLA-GUERRERO I E，BIDOCHKA M J. Differential expression of insect and plant specific adhesin genes，*Mad*1 and *Mad*2，in *Metarhizium robertsii* [J]. Fungal Biology，2011，115(11)：1174－1185.

[53] WYREBEK M，BIDOCHKA M J. Variability in the insect and plant adhesins，Mad1 and Mad2，within the fungal genus *Metarhizium* suggest plant adaptation as an evolutionary force [J/OL]. PLoS ONE，2013，8(3)：e59357. DOI：10.1371/journal.pone.0059357.

[54] 蔡霓，闫多子，农向群，等. 绿僵菌 *mad*2 敲除株构建及其生物学和诱导植物响应的功能分析[J]. 中国农业科学，2021，54(22)：4800－4812.

[55] 闫多子，蔡霓，农向群，等. 金龟子绿僵菌黏附素基因 *mad*1 的敲除及功能分析[J]. 植物保护，2021，47(5)：1－10.

[56] HAO Kun，WANG Feng，NONG Xiangqun，et al. Response of peanut *Arachis hypogaea* roots to the presence of beneficial and pathogenic fungi by transcriptome analysis [J/OL]. Scientific Reports，2017，7：964. DOI：10.1038/s41598-017-01029-3.

（下转 54 页）

[J]. Pest Management Science, 2018, 74(6): 1472 - 1477.

[13] 迟梦宇, 钱恒伟, 赵颖, 等. 禾谷镰孢 FgCYP51B 蛋白 Y137H 影响分生孢子及子囊孢子发育[J]. 植物病理学报, 2019, 49(2): 283 - 288.

[14] ZHAO Yanxiang, CHI Mengyu, SUN Huilin, et al. The FgCYP51B Y123H mutation confers reduced sensitivity to prochloraz and is important for conidiation and ascospore development in *Fusarium graminearum* [J]. Phytopathology, 2021, 111(8): 1420 - 1427.

[15] WANG Jinlong, YU Jinhui, LIU Jing, et al. Novel mutations in CYP51B from *Penicillium digitatum* involved in prochloraz resistance [J]. Journal of Microbiology, 2014, 52(9): 762 - 770.

[16] LI Jinli, LIU Xiangyang, XIE Jiatao, et al. A comparison of different estimation methods for fungicide EC_{50} and EC_{95} values [J]. Journal of Phytopathology, 2015, 163(4): 239 - 244.

[17] HARGROVE T Y, WAWRZAK Z, LAMB D C, et al. Structure-functional characterization of cytochrome P450 sterol 14α-demethylase (CYP51B) from *Aspergillus fumigatus* and molecular basis for the development of antifungal drugs [J]. Journal of Biological Chemistry, 2015, 290(39): 23916 - 23934.

[18] WATERHOUSE A, BERTONI M, BIENERT S, et al. SWISS-MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes [J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46(W1): W296 - W303.

[19] LASKOWSKI R A, MACARTHUR M W, MOSS D S, et al. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures [J]. Journal of Applied Crystallography, 1993, 26(2): 283 - 291.

[20] BENKERT P, BIASINI M, SCHWEDE T. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models [J]. Bioinformatics, 2011, 27(3): 343 - 350.

[21] MORRIS G M, HUEY R, LINDSTROM W, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility [J]. Journal of Computational Chemistry, 2009, 30(16): 2785 - 2791.

[22] MAIER J A, MARTINEZ C, KASAVAJHALA K, et al. ff14SB: Improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2015, 11(8): 3696 - 3713.

[23] FAN Jieru, URBAN M, PARKER J E, et al. Characterization of the sterol 14α-demethylases of *Fusarium graminearum* identifies a novel genus-specific CYP51 function [J]. New Phytologist, 2013, 198(3): 821 - 835.

[24] LEROUX P, WALKER A S. Multiple mechanisms account for resistance to sterol 14α-demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola* [J]. Pest Management Science, 2011, 67(1): 44 - 59.

[25] PEREIRA D A, MCDONALD B A, BRUNNER P C. Mutations in the CYP51 gene reduce DMI sensitivity in *Parastagonospora nodorum* populations in Europe and China [J]. Pest Management Science, 2017, 73(7): 1503 - 1510.

[26] WANG Fei, LIN Yang, YIN Weixiao, et al. The Y137H mutation of *VvCYP*51 gene confers the reduced sensitivity to tebuconazole in *Villosiclava virens* [J/OL]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 17575. DOI:10.1038/srep17575.

[27] COOLS H J, MULLINS J G L, FRAAIJE B A, et al. Impact of recently emerged sterol 14α-demethylase (CYP51) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azole fungicide sensitivity [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(11): 3830 - 3837.

[28] KUDO M, OHI M, AOYAMA Y, et al. Effects of Y132H and F145L substitutions on the activity, azole resistance and spectral properties of *Candida albicans* sterol 14-demethylase P450 (CYP51): A live example showing the selection of altered P450 through interaction with environmental compounds [J]. The Journal of Biochemistry, 2005, 137(5): 625 - 632.

(责任编辑：杨明丽)

(上接 30 页)

[57] WANG Feng, NONG Xiangqun, HAO Kun, et al. Identification of the key genes involved in the regulation of symbiotic pathways induced by *Metarhizium anisopliae* in peanut (*Arachis hypogaea*) roots [J/OL]. 3 Biotech, 2020, 10: 124. DOI: org/10.1007/s13205-020-2105-x.

[58] 闫多子, 蔡霓, 王峰, 等. 绿僵菌黏附素 MAD1 体外表达及诱导花生响应的作用[J]. 中国农业科学,2021, 54(4): 744 - 753.

[59] BEHIE S W, ZELISK P M, BIDOCHKA M J. Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants [J]. Science, 2012, 336(6088): 1576 - 1577.

[60] BEHIE S W, MOREIRA C C, SEMENTCHOUKOVA I, et al. Carbon translocation from a plant to an insect-pathogenic endophytic fungus [J/OL]. Nature Communications, 2017, 8: 14245. DOI: 10.1038/ncomms14245.

[61] FANG Weiguo, ST LEGER R J. *Mrt* , a gene unique to fungi, encodes an oligosaccharide transporter and facilitates rhizosphere competency in *Metarhizium robertsii* [J]. Plant Physiology, 2010, 154: 1549 - 1557.

[62] RESQUÔÂN-ROMERO G, GARRIDO-JURADO I, DELSO C, et al. Transient endophytic colonizations of plants improve the outcome of foliar applications of mycoinsecticides against chewing insects [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2016, 136: 23 - 31.

(责任编辑：杨明丽)