

肖青,李永杰,汪健康,等.内生砖红镰刀菌对番茄生长和抗病的影响[J].华中农业大学学报,2022,41(3):173-180.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.03.020

内生砖红镰刀菌对番茄生长和抗病的影响

肖青^{1,2},李永杰¹,汪健康¹,查兴平¹,黄建明¹,何张江¹,康冀川¹

1. 贵州大学西南特色药用生物资源开发利用教育部工程研究中心,贵阳 550025;
2. 贵州大学生命科学学院,贵阳 550025

摘要 为探究内生真菌砖红镰刀菌在番茄生长及抗病过程中的作用,使用 1×10^7 CFU/mL 砖红镰刀菌芽生孢子悬液浸根处理发芽的番茄,结果显示:处理 50 d 后番茄株高较对照组增加了 1.15 倍;叶绿素 a、叶绿素 b 含量较对照组分别增加 1.16 倍和 1.47 倍;根系生物量较对照增加 1.38 倍;砖红镰刀菌处理组对番茄枯萎病的病情指数(45.16%)较对照组(74.15%)下降;浸根处理 20 d 时植物生长素合成关键基因 *SIYUC5*、水杨酸合成关键基因 *SIICS1* 表达水平与未处理对照组相比无显著差异;处理 30 及 40 d 后,*SIYUC5* 表达水平较对照组相比表达显著上升,*SIICS1* 表达水平较对照组显著降低;茉莉酸合成途径关键基因 *SILOXD* 在 20 d 时表达水平较对照组显著下调 38.73% ($P < 0.01$),而在 30 d 时其表达量与对照组无显著差异,40 d 后,其表达量较对照组显著上调(2.33 倍, $P < 0.01$);试验组中植物抗性相关蛋白基因 *SIPR1a* 在 20、30 和 40 d 的表达量被显著上调了 7.89 倍、5.77 倍和 1.8 倍($P < 0.01$)。进一步用 GFP 标记菌株进行荧光定殖观察并通过 qPCR 法计算其定殖率,14 h 后在番茄根系观察到镰刀菌菌丝存在,并随处理时间延长定殖率逐渐上升。综上,推测砖红镰刀菌能够通过内生定殖于番茄根系介导植物激素相关基因表达从而影响植株的长发育和抗病。

关键词 内生真菌;砖红镰刀菌;番茄;促生;抗病

中图分类号 S641.2:Q949.32 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)03-0173-08

早在 4.6 亿年前的植物化石中就发现真菌孢子的存在,表明植物从开始出现就伴随着内生菌^[1]。在长期的互作过程中,二者相互依存形成了稳定的共生关系。内生菌对植物的影响是全方位的,内生菌可以形成菌丝体网络促进植物对土壤中氮、磷等微量元素的吸收^[2-3];通过占据特殊的生态位,与病原菌竞争营养和生存空间^[4],显著提高植物对病虫害的抗性。此外,内生菌还可激活植物体内的防御机制从而达到增强植物抗性的目的^[5]。近年来,国家出台的化肥和农药零增长的国策,促使人们寻找更环保更有效的策略以应对需求的缺口,内生菌因其对植物具有促生及抗病虫害的作用而成为农业生产上减少化肥和农药使用的理想选择。

大多数镰刀菌属真菌为植物病原菌,其寄主广泛,能感染多种作物,并造成严重经济损失^[6]。但近年来,有报道内生镰刀菌对部分植物不但不会

致病,还具有促生抗病的作用;然而,决定镰刀菌是否致病或促生抗病的关键在于其所处的生态位,不同的生态位下镰刀菌可对宿主可表现出有害、中立和有益等不同的作用^[7]。例如,病原尖孢镰刀菌导致的香蕉枯萎病造成了巴拿马卡迪文许香蕉品种的灭绝^[8]。中立的镰刀菌,能够存在于植物周围而不引起植物病害,但一旦条件成熟则转化为病原菌引起宿主感病,枯萎病、根腐病^[9]都属于该类型。而有益的镰刀菌大多来源于植物内生生态位,如内生轮枝镰刀菌可通过分泌赤霉素改善植物抗盐胁迫的能力^[10],从辣椒根部分离的内生尖孢镰刀菌 EF119 对番茄晚疫病具有良好的防治效果^[11]。上述研究表明,镰刀菌对植物的致病性是寄主特异性的,对一些种类的植物具有致病作用的镰刀菌,在另外一些植物种类中具有促生抗病作用^[12]。

镰刀菌属真菌由于所处生态位的关系,发挥着

收稿日期:2022-03-07

基金项目:国家自然科学基金项目(32170019;32160667;31901947);贵州省国际合作项目(黔科合基础-ZK[2021]145);贵州大学引进人才基金项目(贵大人基合字[2019]71号)

肖青,E-mail:18886071184@163.com

通信作者:康冀川,E-mail:jckang@gzu.edu.cn

不同作用,特别是内生生态的镰刀菌对农业生产具有潜在的利用价值。笔者所在课题组前期研究发现,黔产马比木内生真菌砖红镰刀菌(*Fusarium lateritium*)对马铃薯具有促生抗病的作用^[13]。为拓展该菌株的应用范围,本研究以同为茄科作物的番茄作为研究对象,探究砖红镰刀菌在番茄生长及抗病过程中的作用,旨在为该砖红镰刀菌的后期开发及实际应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

菌株与植物:砖红镰刀菌野生菌株(*F. lateritium*)由贵州大学生物工程中心分离、保存。Micro Tom 番茄(抗病品种)由东北农业大学许向阳教授馈赠;尖孢镰刀菌番茄专化型菌株Fol4287由扬州大学欧阳寿强教授馈赠;花绣球(普通易感番茄品种)、次氯酸钠溶液、番茄水培营养液及营养土均购自贵州锐宏生物有限公司。

质粒:含潮霉素 B(*hyg*)抗性、GFP 片段的质粒 pK₂*hyg* 由西南大学生物技术中心张永军研究员馈赠,贵州大学西南特色药用生物资源开发利用教育部工程研究中心保存。表达 GFP 荧光标记的砖红镰刀菌由笔者所在实验室构建、保存。

1.2 番茄种植及砖红镰刀菌的培养

番茄种子消毒方法参考文献^[16],略有改动。将 Micro Tom 和花绣球种子 50 °C 温水浴浸泡 25 min 后,用 0.75% 次氯酸钠消毒 15 min。蒸馏水漂洗 6~8 次,漂洗后将种子浸泡于蒸馏水中置于 28 °C 催芽 3~5 d。待其发芽后采用 3 种方法培养:(1)用无菌镊子将 Micro Tom 番茄转移至 MS 培养基上无菌生长;(2)将花绣球番茄根部浸没在水培营养液(按水培营养液配方说明书配制)中进行水培培养;(3)Micro Tom 番茄直接种植于土壤中,用于后续研究。

将砖红镰刀菌接种至 PDA 培养基培养 6~8 d 后挑取菌块至 1/4 SDB 液体培养基中于 28 °C、180 r/min 摇床培养 4~6 d。

1.3 砖红镰刀菌对番茄生长的影响检测

将砖红镰刀菌接种在铺有无菌玻璃纸的 CZM 培养基上培养 10 d 后,刮取菌丝并用 0.05% Tween 80 重悬,制备含菌丝体与孢子的混悬液。并调整其分生孢子浓度为 1×10^5 CFU/mL,通过浸根法处理 Micro Tom 番茄(下文除特别说明是“花绣球番茄”外,“番茄”都指“Micro Tom 番茄”)。取生长 14 d 后

的番茄植株进行研究,对照组和处理组各 25 株番茄。每次接种 5 mL 菌丝体悬液于番茄根部,对照组接种 5 mL 含 0.05% Tween 80 的蒸馏水,每 4 d 浸根处理 1 次,共浸根处理 10 次,处理 50 d 时统计番茄株高、根系生物量。

1.4 番茄叶绿素提取方法

叶绿素提取及叶绿素含量计算参考王凤婷等^[17]方法,略有改动。浸根法处理番茄 50 d 后,取番茄叶位一致的叶片,洗净,擦干叶片表面水分,剪成 2 mm 细条,混匀后称取细条 0.4 g 放入研钵中,吸取 5 mL 95% 乙醇研磨提取,充分研磨后将番茄叶片研磨液过滤,转移至 50 mL 棕色容量瓶中,并用 95% 乙醇洗涤研钵和研磨棒上残余液体,最后用 95% 乙醇定容至 50 mL。过滤后的研磨液摇匀后分别于波长 665、649 nm 处测定吸光度,重复 3 次,并据此计算叶绿素含量。

1.5 砖红镰刀菌对番茄枯萎病抗性的影响检测

尖孢镰刀菌番茄专化型菌株 Fol4287 于 PDA 培养基上 27 °C 生长 10 d 后,刮取培养基上孢子并用 0.05% Tween 80 悬浮,调整其浓度为 1×10^7 CFU/mL。选取水培培养 1 个月的花绣球番茄,处理组及对照组各 15 株;对照组采用 0.05% Tween 80 浸泡处理番茄根系,处理组采用 1×10^7 CFU/mL 砖红镰刀菌孢子悬液浸泡,32 h 后,采用 1×10^7 CFU/mL 尖孢镰刀菌孢子悬液浸泡对照组及处理组番茄(花绣球)根系,处理 35 min 后将花绣球番茄移入土壤中生长,14 d 后观察植物生长及发病情况。

1.6 砖红镰刀菌介导番茄植物激素关键基因表达水平的检测

将经 1×10^7 CFU/mL 砖红镰刀菌孢子悬液浸根处理 20、30、40 d 的番茄根系用水冲洗干净后液氮速冻,并提取番茄 RNA。将其反转录为 cDNA 后,选用在番茄根和叶中表达均较为稳定的甘油醛 3-磷酸脱氢酶基因(*GAPDH*)作为番茄内参基因^[14-15]。采用 RT-qPCR 法检测番茄中生长素合成关键基因 *SIYUC5*、水杨酸合成关键基因 *SIICS1*、茉莉酸合成关键基因 *SILOXD* 及与植物抗性有关的一个病程相关蛋白基因 *SIPR1a*^[18] 的表达水平。每个 PCR 反应各进行 3 次重复。反应条件:95 °C 预变性 90 s;95 °C 变性 5 s,56 °C 退火 15 s,72 °C 延伸 30 s,40 次循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量。研究中用到的相关引物见表 1。

表1 逆转录实时荧光定量PCR引物
Table 1 Primers for real time fluorescence quantitative reverse PCR

引物名称 Name of primers	引物序列 Prime sequence	扩增长度/bp Amplicon length
<i>SIICS1</i> -F	ATGTATGCTGGTCCTGTTG	133
<i>SIICS1</i> -R	AATCACTTCCTTCCACTATCC	
<i>SIPR1a</i> -F	GAGGGCAGCCGTGCAA	81
<i>SIPR1a</i> -R	CACATTTTCCACCAACACATTG	
<i>SILOXD</i> -F	GCAGAGATTGTTGAAGCATT	111
<i>SILOXD</i> -R	ACCAGCACACACCTATT	
<i>SIYUC5</i> -F	GCAATGTTCATATTGGCTAC	155
<i>SIYUC5</i> -R	TCTAATGGCATCAGCAGAAG	
<i>GAPDH</i> -F	GGCTGCAATCAAGGAGGAA	204
<i>GAPDH</i> -R	AAATCAATCACACGGGAAGT	

1.7 砖红镰刀菌在番茄中定殖的观察

将用MS培养基上无菌培养的番茄根部浸泡在表达GFP荧光标记的砖红镰刀菌 1×10^7 CFU/mL孢子悬液中, 22 °C静置14 h后取出番茄植株。用蒸馏水冲洗干净番茄根部, 加入终质量浓度为200 $\mu\text{g/mL}$ 的碘化丙啶(propidium iodide, PI)。置于37 °C培养箱黑暗条件染色25~30 min, 染色完成后, 将植物根系用 $1 \times \text{PBS}$ 缓冲液洗涤4~6次, 每次冲洗时间不少于2 min。将染色处理后的根样固定在含10%甘油的载玻片上, 并于激光共聚焦倒置显微镜成像系统(LSM900, ZEISS)的载物台上进行观察并拍照。

1.8 砖红镰刀菌定殖率的测定

按表2进行引物筛选, 最终选定砖红镰刀菌特有基因*FIEF1a*进行研究。首先按本文“1.2”方法摇床培养砖红镰刀菌6 d后收集砖红镰刀菌孢子, 悬浮于无菌水中并调整其浓度分别为 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 和 10^4 CFU/mL, 按He等^[19]方法进行绝对定量标准曲线的制作。选取土壤中生长30 d的番茄, 用0.05% Tween 80将砖红镰刀菌孢子浓度调整为 1×10^7 CFU/mL后将番茄根部浸泡在孢子悬液中, 收集0、6、12、24、48 h的番茄根系用水冲洗干净后液氮速冻, 并提取番茄DNA。使用倍沃公司真菌gDNA提取试剂盒提取砖红镰刀菌DNA, 提取方法严格按照说明书上进行。通过实时荧光定量PCR结合标准曲线测定砖红镰刀菌定殖率。

表2 砖红镰刀菌实时荧光定量PCR引物筛选
Table 2 Screening of real-time fluorescent quantitative PCR primers for *F. lateritium*

引物名称 Name of primers	引物序列 Prime sequence	扩增长度/bp Amplicon length
<i>FlActin</i> -F	GTGTGATGTCGATGTCCGAAA	106
<i>FlActin</i> -R	ACTTGCGGTGGACGATTGA	
<i>FlActin2</i> -F	GGGTCTTGAGAGCGGTGGTAT	133
<i>FlActin2</i> -R	TGGACAGGAAGCAAGAATGG	
<i>FIEF1a2</i> -F	CCCGGTGACAACGTTGGTTT	86
<i>FIEF1a2</i> -R	TCGTTCTTGAGTCACCAGC	
<i>FIEF1a</i> -F	TGAGATCCAGGAGAAGATTG	204
<i>FIEF1a</i> -R	AGGAGGGTAGTCAGTGAAA	

2 结果与分析

2.1 砖红镰刀菌对番茄生长的影响

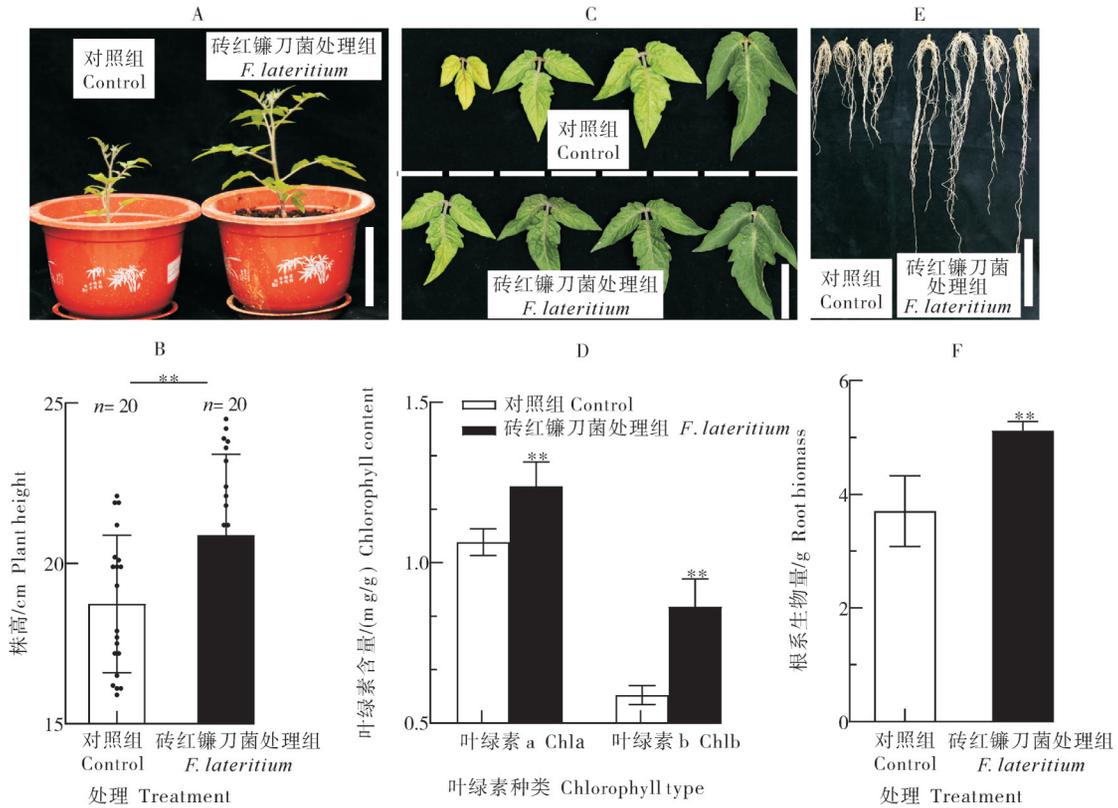
浸根法处理番茄50 d后测定植株的相关指标, 结果显示: 相较于对照组, 经砖红镰刀菌处理后, 番茄株高显著增加, 处理组平均株高较对照组增加了1.15倍($P < 0.01$) (图1A、B); 处理组叶绿素a及叶绿素b的含量均较对照显著增加(1.16倍和1.47倍, $P < 0.01$) (图1C、D); 砖红镰刀菌处理促进番茄植株根部发育(图1E), 且其根系生物量显著大于未处理的对照组(1.38倍, $P < 0.01$) (图1F); 表明砖红镰刀菌促进了番茄植株的生长。

2.2 砖红镰刀菌对番茄枯萎病抗性的影响

生测结果显示, 处理组病情指数为45.16%, 而对照组为74.15% (图2A、B), 处理组较对照组病情指数下降。表明砖红镰刀菌增强了番茄植株对番茄枯萎病(病原菌为尖孢镰刀菌)的抗性。

2.3 砖红镰刀菌对番茄中植物激素关键基因表达的影响

为探究砖红镰刀菌是否能通过影响植物中激素表达而促进番茄生长及增强其对其他病原菌的抗性, 通过RT-qPCR检测了对照组及砖红镰刀菌浸根处理后(20、30、40 d)的番茄植株中植物激素相关基因的表达。结果显示, 生长素合成关键基因*SIYUC5*在浸根处理20 d后与未处理对照组相比无显著差异, 而在处理30及40 d后, *SIYUC5*较对照组相比表达显著上升(3.4倍和1.6倍, $P < 0.01$) (图3A); 水杨酸合成关键基因*SIICS1*在浸根处理20 d后与未处理对照组相比无显著差异, 但处理30及40 d后, 其表达水平较对照组相比显著降低(45.36%和36.13%,



A: 处理和对照番茄株高表型; B: 处理组和对照番茄株高统计; C: 处理组与对照番茄叶片表型; D: 处理组和对照番茄叶绿素 a、b 含量; E: 处理组和对照番茄根系表型; F: 处理组和对照番茄根干质量统计。图中统计数据为 3 次生物学重复的平均值 ± 标准差; “**” 代表处理组与对照组的显著性分析结果 ($P < 0.01$)。A、C 比例尺为 10 cm; B 比例尺为 2 cm。A: Plant height phenotype of the treatment with *F. lateritium* and the control; B: The plant height statistics of the treatment with *F. lateritium* and the control; C: Leaf phenotype of the treatment group with *F. lateritium* and the control; D: Tomato chlorophyll (a, b) content statistics of the treatment with *F. lateritium* and the control; E: Roots phenotype of the treatment with *F. lateritium* and the control; F: Roots dry weight statistics of the treatment with *F. lateritium* and the control. Results are means ± SD from three biological replicates; “**” indicate significant differences between treatment group and control group ($P < 0.01$). Scale bar is 10 cm in A, C; Scale bar is 2 cm in C.

图 1 砖红镰刀菌对番茄株高(A、B)、叶片(C、D)和根系(E、F)的影响

Fig.1 Effects of *F. lateritium* on tomato plant height(A, B), leaf (C, D) and roots(E, F)



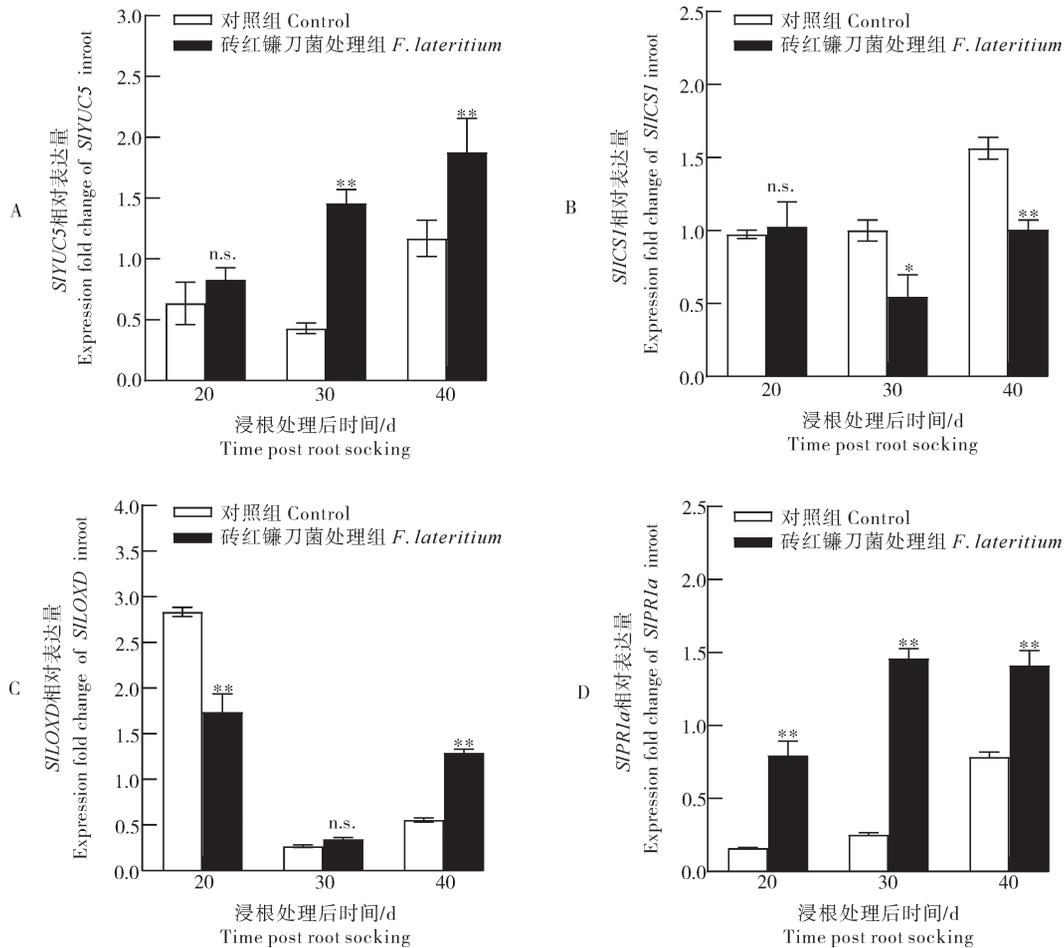
A: 接种 14 d 后番茄叶片发病情况 (比例尺为 2 cm); B: 14 d 后番茄叶片病情指数统计。A: Incidence of tomato leaf disease 14 d post root soaking with *F. lateritium* (Scale bar is 2 cm); B: Statistics of leaf disease index 14 d post root soaking with *F. lateritium*.

图 2 砖红镰刀菌对番茄枯萎病的影响

Fig.2 Effects of *F. lateritium* on resistance to tomato fusarium wilt

$P < 0.05$, $P < 0.01$), 而对照组 *SIICS1* 整体呈上升趋势, 表明砖红镰刀菌下调了 *SIICS1* 的表达(图3B); 茉莉酸合成途径关键基因 *SILOXD* 在 20 d 时较对照组显著下调了 38.73% ($P < 0.01$), 而在 30 d 时其表达量较对照组无显著差异, 40 d 后, 其表达量较对照组显著上调(2.33 倍, $P < 0.01$)(图3C)。而试验组中

植物抗性相关蛋白 *SIPR1a* 在 20、30 和 40 d 的表达量被显著上调了 7.89 倍、5.77 倍和 1.8 倍 ($P < 0.01$), 表明植物防御可能存在高激活状态(图3D)。综上, 我们推测内生砖红镰刀菌通过影响番茄中与植物生长和抗病相关的植物激素基因的表达, 从而促进番茄生长并增强其抗性。



利用 RT-qPCR 法检测对照和浸根处理组 *SIYUC5*(A)、*SIICS1*(B)、*SILOXD*(C) 及 *SIPR1a*(D) 基因的表达量, 以 *FIEF1a* 作为内参基因。 *FIEF1a* was used as reference gene. The relative expression levels of *SIYUC5* (A), *SIICS1*(B), *SILOXD*(C) and *SIPR1a*(D) genes in control group and root soaking treatment group were detected by RT-qPCR.

图3 砖红镰刀菌激活番茄中植物激素相关基因表达

Fig.3 The expression of plant hormone-related genes is mediated by *F. lateritium*

2.4 砖红镰刀菌在番茄中定殖的观察结果

为检测砖红镰刀菌在番茄根系中的定殖状况, 使用激光共聚焦倒置显微镜观察砖红镰刀菌定殖情况。结果发现, 处理 14 h 后在番茄根系能够观察到 GFP 标记的砖红镰刀菌菌丝, 并且在根细胞内观察到砖红镰刀菌菌丝生长(图4)。表明砖红镰刀菌能够内生定殖于番茄根系。

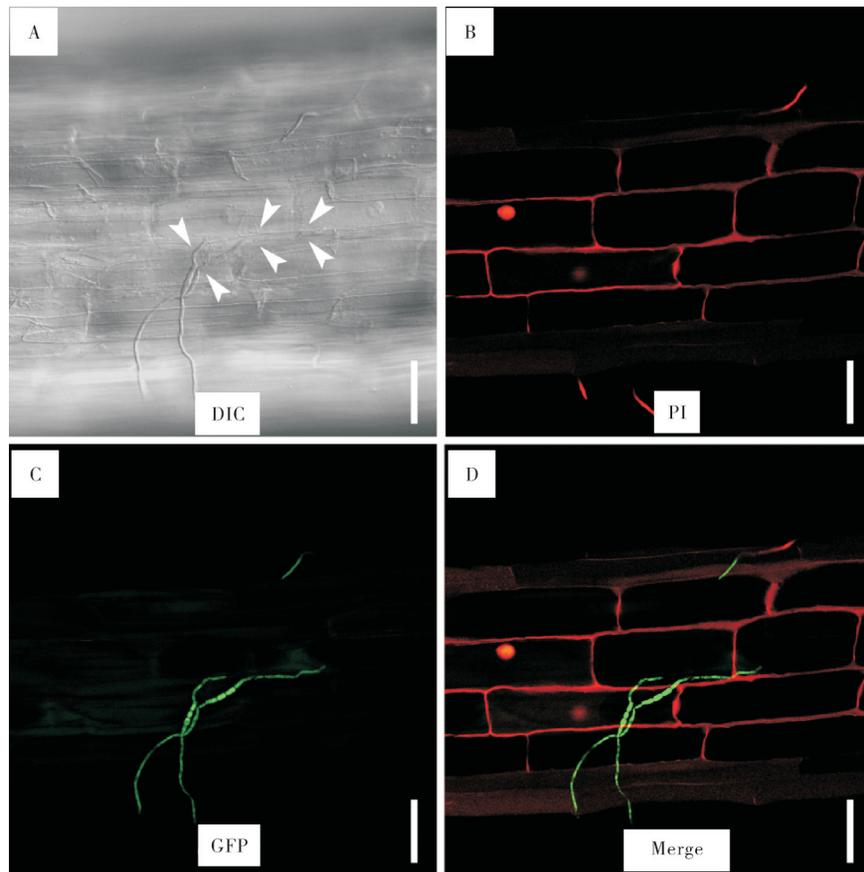
2.5 砖红镰刀菌在番茄中的定殖率

为量化砖红镰刀菌在番茄根部的定殖程度, 通

过 qPCR 检测其定殖率。以 *FIEF1a*-F/R 为引物, 绘制砖红镰刀菌绝对定量标准曲线, 结果表明砖红镰刀菌孢子数与 Cq 值相关(图5A), 以此标准曲线为参考, 结合 qPCR 结果表明砖红镰刀菌能够在番茄植株中定殖, 且在 6~48 h 其定殖率随着定殖时间的延长而显著增加(图5B)。

3 讨论

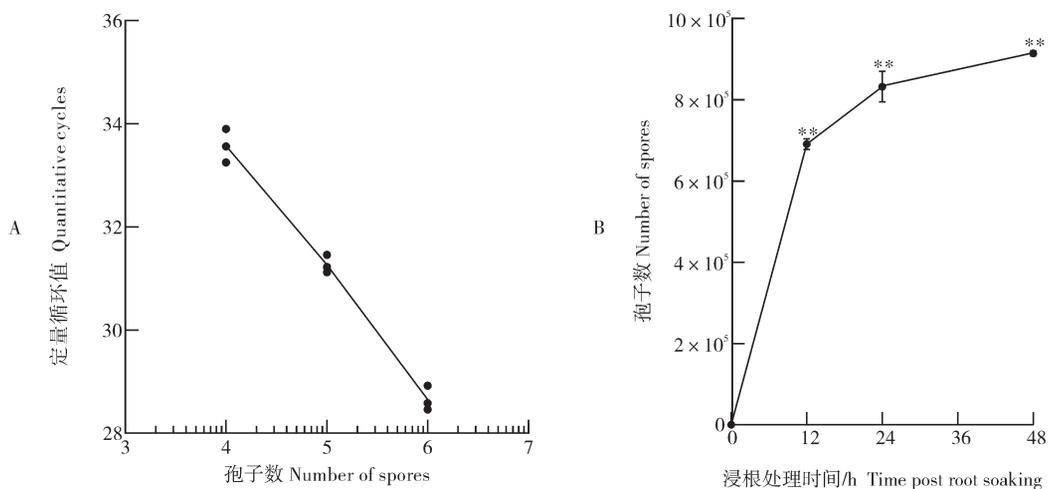
前人在研究植物病原菌与植物互动时发现植物的生长往往与其抗病性负相关^[20], 其原因在于促进



表达GFP的砖红镰刀菌处理番茄14 h后,激光共聚焦荧光显微镜下观察到表达GFP的镰刀菌营养菌丝。A:微分干涉;B:PI染色;C:GFP荧光图像;D:根系PI染色和GFP荧光融合显微图像。比例尺=50 μm。After tomato was treated with GFP expressing *F. lateritium* for 14 hours, the vegetative hyphae of GFP expressing *F. lateritium* were observed under laser confocal fluorescence microscope. A: Differential interference; B: PI staining; C: GFP fluorescence image; D: PI staining and GFP fluorescence microscopic images of roots were combined. Scale bar = 50 μm.

图4 表达GFP的砖红镰刀菌在番茄根系的显微观察

Fig.4 Microscopic image of tomato roots stained with PI



A: 砖红镰刀菌绝对定量标准曲线;B:以 *FIEF1α* 为引物测定砖红镰刀菌定殖率。A: Absolute quantitative standard curve of *F. lateritium*; B: Colonization rate of *F. lateritium* determined with *FIEF1α* as primer.

图5 荧光定量PCR法检测砖红镰刀菌在番茄中的定殖率

Fig.5 Colonization rate of *F. lateritium* in tomato detected by fluorescence quantitative PCR

植株生长的生长素与增强植株系统抗性的激素水杨酸存在拮抗关系。然而,有研究表明内生菌定殖能在促进植物生长的同时提高植物抗病性^[21],由此可以推测,病原菌和内生菌对植物的作用机制有着本质的区别。与病原菌一样,内生真菌功能的发挥同样依赖于成功定殖植物,这会触发植物的免疫防御系统,引发植物防御相关基因如病程相关蛋白基因 *PR1a* 的高表达^[22]。本研究结果表明,番茄在接种内生砖红镰刀菌后其生长素合成相关基因 *SIYUC5* 表达水平显著提高,与植物生长素促进植物生长的功效一致。然而,有意思的是水杨酸合成途径关键基因 *SIICS1* 的表达显著下调,茉莉酸合成关键基因 *SILOXD* 和病程相关蛋白基因 *SIPR1a* 的表达水平显著上调。由此推测,内生砖红镰刀菌可能通过迂回的方式,在抑制植物 SA 通路促进定殖的同时,激活茉莉酸和病程相关蛋白基因的表达,增强植物抗病性^[23],实现促生与抗病相统一。内生菌抑制水杨酸合成、激活生长素和茉莉酸合成途径的机制还需要深入的探究;内生砖红镰刀菌的寄主谱也还要进一步的发掘,为将其开发成为“植物疫苗”奠定基础。

参考文献 References

- [1] DAVISON J, MOORA M, ÖPIK M, et al. Fungal symbionts: global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism [J]. *Science*, 2015, 349: 970-973.
- [2] JACOBY RP, CHEN L, SCHWIER M, et al. Recent advances in the role of plant metabolites in shaping the root microbiome [J/OL]. *F1000 Research*, 2020, 9: 151 [2022-03-07]. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21796.1>.
- [3] BEHIE S W, MOREIRA C C, SEMENTCHOUKOVA I, et al. Carbon translocation from a plant to an insect-pathogenic endophytic fungus [J/OL]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14245 [2022-03-07]. <https://doi.org/10.1038/ncomms14245>.
- [4] HUANG J. Ultrastructure of bacterial penetration in plants [J]. *Annual review of phytopathology*, 1986, 24(1): 141-157.
- [5] KU Y, YUNG Y, LI M, et al. Drought stress and tolerance in soybean, a comprehensive survey of international soybean research: genetics, physiology, agronomy and nitrogen relationships [M/OL]. London: Intech Open [2022-03-07]. <http://dx.doi.org/10.5772/52945>.
- [6] DEAN R, VAN KAN JAN A L, PRETORIUS Z A, et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology: Top 10 fungal pathogens [J]. *Mol Plant Pathol*, 2012, 13: 414-430.
- [7] DE LAMO F J, SPIJKERS S B, TAKKEN F L W. Protection to tomato wilt disease conferred by the nonpathogen *Fusarium oxysporum* Fo47 is more effective than that conferred by avirulent strains [J]. *Phytopathology*, 2021, 111(2): 253-257.
- [8] O'DONNELL K, KISTLER H C, CIGELNIK E, et al. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies [J]. *PNAS*, 1998, 95(5): 2044-2049.
- [9] CRUZ D R, LEANDRO L F S, MAYFIELD D A, et al. Effects of soil conditions on root rot of soybean caused by *Fusarium graminearum* [J]. *Phytopathology*, 2020, 110(10): 1693-1703.
- [10] RADHAKRISHNAN R, KHAN A L, LEE I J. Endophytic fungal pre-treatments of seeds alleviates salinity stress effects in soybean plants [J]. *J Microbiol*, 2013, 51(6): 850-857.
- [11] KIM H Y, CHOI G J, LEE H B, et al. Some fungal endophytes from vegetable crops and their anti-oomycete activities against tomato late blight [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2007, 44(3): 332-337.
- [12] DE LAMO F J, TAKKEN F L W. Biocontrol by *Fusarium oxysporum* using endophyte-mediated resistance [J/OL]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 37 [2022-03-07]. <http://doi.org/10.3389/fpls.2020.00037>.
- [13] 汪健康, 肖青, 查兴平, 等. 对马铃薯具促生抗病作用的砖红镰刀菌及其遗传转化体系构建 [J]. *菌物学报*, 2021, 40(8): 2008-2013. WANG J K, XIAO Q, ZHA X P, et al. Endophyte *Fusarium lateritium* showing potato growth promotion and disease resistance and the construction of its genetic transformation system [J]. *Mycosystema*, 2021, 40(8): 2008-2013 (in Chinese with English abstract).
- [14] MASCIA T, SANTOVITO E, GALLITELLI D, et al. Evaluation of reference genes for quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction normalization in infected tomato plants [J]. *Molecular plant pathology*, 2010, 11(6): 805-816.
- [15] CHOI S W, HOSHIKAWA K, FUJITA S, et al. Evaluation of internal control genes for quantitative realtime PCR analyses for studying fruit development of dwarf tomato cultivar 'Micro-Tom' [J]. *Plant Biotechnol (Tokyo)*, 2018, 35(3): 225-235.
- [16] LIAN J, HAN H, ZHAO J, et al. *In-vitro* and in-planta *Botrytis cinerea* inoculation assays for tomato [J/OL]. *Bio-protocol*, 2018, 8(8): e2810 [2022-03-07]. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2810>.
- [17] 王凤婷, 张鑫生, 潘洪玉, 等. 蔬菜叶绿素不同提取方法的比较 [J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(6): 1-3, 6. WANG F T, ZHANG X S, PAN H Y, et al. Comparison of different extraction methods of vegetable chlorophyll [J]. *Anhui agricultural sciences*, 2020, 48(6): 1-3, 6 (in Chinese with English abstract).
- [18] LI W, LI C, SUN J, et al. Metabolomic, biochemical, and gene expression analyses reveal the underlying responses of resistant and susceptible banana species during early infection with *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense [J]. *Plant disease*, 2017, 101(4): 534-543.
- [19] HE Z, ZHAO X, GAO Y, et al. The fungal mitochondrial membrane protein, BbOhmm, antagonistically controls hypoxia tolerance [J]. *Environmental microbiology*, 2020, 22(7): 2514-2535.
- [20] 张杰, 董莎萌, 王伟, 等. 植物免疫研究与抗病虫绿色防控: 进展、机遇与挑战 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(11): 1479-1507. ZHANG J, DONG S M, WANG W, et al. Plant immunity

- and sustainable control of pests in China: advances, opportunities and challenges [J]. *Sci Sin Vitae*, 2019, 49(11): 1479-1507 (in Chinese with English abstract).
- [21] GAO Y, NING Q, YANG Y, et al. Endophytic *Streptomyces hygroscopicus* OsiSh-2-mediated balancing between growth and disease resistance in host rice [J/OL]. *MBio*, 12(4): e0156621 [2022-03-07]. <https://doi.org/10.1128/mBio.01566-21>.
- [22] BORGES A, MELOTTO M, TSAI S M, et al. Changes in spatial and temporal gene expression during incompatible interaction between common bean and anthracnose pathogen [J]. *Journal of plant physiology*, 2012, 169(12): 1216-1220.
- [23] BASTIAS D A, MARTÍNEZ-GHERSA M A, BALLARÉ C L, et al. Epichloë fungal endophytes and plant defenses: not just alkaloids [J]. *Trends Plant Sci*, 2017, 22(11): 939-948.

Effects of an endophytic *Fusarium lateritium* on growth and disease resistance of tomato

XIAO Qing^{1,2}, LI Yongjie¹, WANG Jiankang¹, ZHA Xingping¹,
HUANG Jianming¹, HE Zhangjiang¹, KANG Jichuan¹

1. *Engineering Research Center of Southwest Bio-Pharmaceutical Resources, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025, China;*
2. *College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China*

Abstract The previous studies in authors' group indicated that an endophytic *Fusarium lateritium* from the *Nothapodytes pittosporoides* (Oliv.) plant may promote the growth and disease resistance of potato. In order to expand the application scope of this strain, tomato, which is also a *Solanaceae* crop, was used to study the effects of *F. lateritium* on the growth and disease resistance. The results showed that the plant height of tomato increased by 1.15 times compared with the control group after 50 days of root-soaking treatment with *F. lateritium*. The content of chlorophyll a and chlorophyll b were 1.16 times and 1.47 times higher than that of the control group. The root biomass of the treatment was 1.38 times higher than that of the control, indicating that *F. lateritium* promotes the growth of tomato. The results of bioassay showed that the fusarium wilt disease index of tomato (45.16%) in the treatment group with *F. lateritium* was about 28.99% lower than that in the control group (74.15%), indicating that *F. lateritium* enhances the resistance of tomato to fusarium wilt. The expression patterns of key genes in the auxin synthesis, salicylic acid synthesis and jasmonic acid pathway of tomato were analyzed after 20, 30 and 40 days of treatment. The results showed that the treatment affected the expression of key genes of plant hormones to different degrees. The GFP-labeled strain was further used for fluorescence colonization observation and the colonization rate was calculated by qPCR method. After 14 hours, the presence of *F. hyphae* was observed in the root system of tomato. The colonization rate of *F. hyphae* gradually increased with the extension of the treatment time within a certain period of time, indicating that *F. lateritium* can endogenously colonize the root system of tomato. In conclusion, it is speculated that *F. lateritium* can mediate the expression of phytohormone-related genes through the endogenous colonization in roots of tomato, thereby affecting the plant growth and disease resistance of tomato.

Keywords endophytic fungus; *Fusarium lateritium*; tomato; promote growth; disease resistance

(责任编辑:张志钰)