

木霉菌的生物防治分子机理

古丽吉米拉·米吉提, 王志英, 王娜, 窦恺, 黄颖, 刘志华

(东北林业大学 林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘 要:木霉菌是重要的植物病害生物防治菌, 该文在简要介绍木霉菌及其生防机制的基础上, 综述了木霉与病原菌的互作关系, 通过对营养和空间的竞争来抑制病原真菌的生长和繁殖, 木霉菌对病原真菌的重寄生机制、木霉菌产生抗生素抑制或杀死病原真菌的抗生机制、以及木霉菌促进植物生长诱导植物系统抗病性机制等几方面阐述了木霉的生物防治机制, 以期为全面了解木霉对植物真菌病害生物防治机制提供理论指导。

关键词:木霉; 植物病害; 生物防治

中图分类号:S 763.15 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0206-07

木霉(*Trichoderma* spp.)属于半知菌类的丝孢纲丛梗孢目丛梗孢科植物真菌病害的生防菌, 对多种真菌病害具有较好的防治效果。目前, 世界上已有商品化木霉生防菌剂(Biological Fungicide)投放市场, 如加拿大的‘RootShield’杀菌剂(*T. harzianum* KRL-AG2); 美国的‘F-Stop’杀菌剂(*T. harzianum* T-22G); 印度的‘SARDAR ECO GREEN’(*T. harzianum*)以及中国的“木霉菌”(农药登记号 LS20083122)等均为通过相关机构注册的商品化真菌生物农药。木霉菌作为生物防治因子的优势首先在于对多种植物病原菌具有广谱的抗菌、抑菌特性, 可防治可可黑荚病^[1-2](Black-pod disease), 葡萄孢疫病^[3](*Botrytis* blight)及西红柿和黄瓜枯萎病^[4-5](*Fusarium* wilt)等多种真菌病害; 其次木霉菌不仅可以防治农作物和林木植物生长期的病害, 而且可防治采摘后的蔬菜、水果及园艺花卉等材料储存期的病害^[6], 同时还能刺激种子萌发、根的伸长、植物生长和促

进开花结实^[7]。木霉菌是具有杀灭病原微生物、促进植物生长^[4]和土壤改良等多种功能的有益微生物。

木霉菌的生防机制是当前植物病害生物防治领域研究的热点。为了探索木霉菌的生物防治机制, 美国能源部基因组研究所已经对 4 种生物防治效果优良的木霉菌, 如“绿色木霉 Gv29-8”(*Trichoderma virens* Gv29-8), “深绿木霉 ATCC 74058”(*T. atroviride* ATCC 74058), “哈茨木霉 CBS226.95”(*T. harzianum* CBS226.95), “棘孢木霉 CBS433.97”(*T. asperellum* CBS433.97)进行了基因组测序(<http://genome.jgi-psf.org/>)。同时对多个木霉菌株也进行了表达序列标签(EST)研究^[8-9]及转录组研究^[10], 获得一批具有生物防治功能的基因, 为创制生物防治酶制剂类农药提供了优良的基因资源。木霉生物防治机理主要是竞争、重寄生、抗生、诱导植物系统抗病性^[11-12]等。诱导植物系统抗病性是对植物免疫能力的全面提升, 比竞争、重寄生和抗生等单一的生物防治机制更重要。

木霉菌生物防治机制包括定植在植物根际通过营养和空间的竞争来抑制病原真菌的生长和繁殖^[1,13], 木霉菌对病原真菌的重寄生^[14], 木霉菌产生抗生素抑制或杀死病原真菌^[15-16]和促进植物生长诱导植物系统抗病性^[11]等机制。

1 木霉菌与病原菌的互作关系

木霉菌一般以重寄生或腐生-重寄生形式与其它真

第一作者简介:古丽吉米拉·米吉提(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向为森林有害生物综合治理。E-mail:339809980@qq.com.

责任作者:刘志华(1976-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为森林病害生物防治。E-mail:LZHNEFU@126.com.

基金项目:黑龙江省博士后科研启动基金资助项目(LBH-Q10156); 黑龙江省青年科学基金资助项目(QC2011C003); 国家自然科学基金面上资助项目(31170601)。

收稿日期:2013-06-19

Abstract: The present situation of tissue culture of Betulaceae was discussed. The explants types, sterilization methods and pollution control, the basic types of medium and hormone types and ratio in tissue culture of Betulaceae had been reported were analyzed. Moreover, the existing questions in tissue culture of Betulaceae were pointed out, in order to provide reference for the establishment of efficient tissue culture system of Betulaceae.

Key words: Betulaceae; tissue culture; basic media; plant hormone

菌直接作用。从分子水平上对 75 种 1 100 余株木霉菌调查显示,所有供试木霉菌种对链格孢菌(*Alternaria alternata*)、灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)这 3 种植物病原菌拥有潜在的重寄生能力。同时,木霉菌还能以死的真菌菌丝体为营养物质,所以它们的生活方式包括腐生和活体 2 种营养方式^[17]。

1.1 木霉菌识别寄主病原菌的存在

目前,深绿木霉、绿色木霉、*T. jecorina* 3 种生防木霉菌的基因组测序已经完成^[18],木霉转录组学的应用^[10,19]对木霉与病原菌互作的分子生理学研究提供了重要的理论依据。许多编码蛋白酶和寡肽转运蛋白的基因在木霉菌与寄主病原菌接触以及接触之前就开始表达^[19-20]。这些蛋白酶大多数属于类枯草杆菌蛋白酶组。例如:从不同培养条件下“哈茨木霉 CECT2413”菌株的表达序列标签中可以发现编码这些酶的基因明显过表达^[20]。此外,从深绿木霉与寄主病原菌(立枯丝核菌,核盘菌)接触时所获得的表达序列标签可以发现大量编码类枯草杆菌蛋白酶基因的过表达^[19]。过表达这些蛋白酶的(*prb1* 基因编码)深绿木霉菌株表现出更强的重寄生能力^[21]。深绿木霉表达的蛋白酶降解寄主病原菌菌丝表面的蛋白,使它释放寡肽类,之后寡肽类跟木霉感受器连在一起^[19]。这个机制会让人联想到食线虫真菌用线虫释放的寡肽类来诱捕^[22](图 1)。IV 类 G 蛋白偶联受体(GPCRs)在深绿木霉^[19]中担当寡肽类的传感器^[18]。深绿木霉、绿色木霉、*T. jecorina* 基因组各有 2 个 IV 类 GPCRs 旁系同源物^[18]。GPCRs 进一步参与对寄主病原菌的识别。比如,深绿木霉 Gpr1 蛋白是 GPCRs 类环磷酸腺苷的受体成员,是深绿木霉重寄生所必须的蛋白^[23]。受体的进一步信号转导通过包含 3 个 G α 亚基,1 个 G β 亚基和 1 个 G γ 亚基的保守 G 蛋白信号级联实现。缺失 G α 亚基 *Tga1* 基因使深绿木霉完全失去了对 3 个寄主真菌的重寄生能力,而且几丁质酶的活力明显减小,抗真菌化合物 6-戊基吡喃酮产量下降^[24-25];相反,*tagA*(*tga1* 同系物)基因的缺失只是减少了绿色木霉对菌核菌重寄生能力^[26]。

促分裂素原活化蛋白激酶(MAPK)信号途径是真菌中最突出的信号转导系统之一^[27]。木霉菌基因组保护基因 harbour genes 编码 3 个 MAPKs:致病 MAPK(*TmkA*;也称 *Tvk1* 和 *Tmk1*)、细胞完整性激酶(*TmkB*)和调节渗透作用的 MAPK^[27](*Hog1*)。绿色木霉“P”菌株(“P”菌株产生 gliovirin,它具有防治腐霉菌的效果)上因缺失 *tmkA* 基因而减弱其对菌核菌的拮抗作用,但对核盘菌的作用不变^[28-29]。绿色木霉“Q”菌株上 *tmkA* 基因的缺失进一步提高了其对核盘菌和菌核菌的生物防治作用^[30]。“P”和“Q”菌株的不同代谢模式可能是导致这种结果的原因,关于“P”菌株基因组的更多信息可以帮助验证这个假设。*Tmk1* 同源基因的缺失可以引起深绿木霉对核盘菌的重寄生能力的减弱,但增加了几丁质

酶和抗真菌化合物的产量^[31]。其它 2 个 MAPKs, *TmkB* 和 *Hog1* 的作用目前了解的并不多。因为这些基因的突变体生长能力很弱,妨碍拮抗试验的成功。比如绿色木霉 *TmkB* 突变体^[32]和深绿木霉 *Hog1*(有关耐渗透和氧化应激的蛋白)突变体^[33]失去对菌核菌的重寄生能力。

1.2 木霉菌对寄主病原菌菌丝的附着

木霉菌的重寄生需要环绕靶标病原真菌的菌丝,并形成螺旋状菌丝^[17,34],这种现象依赖于木霉识别寄主病原菌分泌的凝集素^[35](图 1)。此外,植物凝集素也能诱导类似程度的盘绕,表明在木霉附着寄主病原菌过程中凝集素并不是唯一的决定因素^[24]。此外,盘绕并不一定与重寄生相关,没有寄主真菌时一些木霉菌也盘绕自己的菌丝^[36]。螺旋状生长是许多木霉菌种的鉴别特征,如 *T. spirale* 和 *T. helicum*(<http://nt.ars-grin.gov/taxa-descriptions/keys/TrichodermaIndex.cfm>)。

木霉的重寄生初期,在寄主菌丝上生长并形成乳头状小突起,并且乳头状小突起不受寄主真菌种类的影响^[24,37]。之后,小突起开始降解细胞壁,侵入(穿透)管腔^[17,34,37]。这些结构和哈茨木霉诱导番茄时所形成的结构相似^[37],也与植物病原真菌的附着胞类似。稻瘟病菌贮藏脂质产生丙三醇,使细胞肿胀,形成机械压力侵入植物细胞壁^[38]。木霉乳头状小突起也以相似的目的积累丙三醇,重寄生木霉接触阶段有关脂质分解代谢和渗透调节的基因在转录水平上增加^[19]。不仅木霉的寄生菌丝可以接触和缠连潜在寄主病原菌,孢子也可以粘附病原菌菌丝,如深绿木霉孢子在萌发前可以粘附在腐霉菌菌丝上^[36]。虽然分生孢子与寄主菌丝亲和机制尚不十分清楚,但有可能涉及小分子疏水蛋白,小分子疏水蛋白是含有 8 个半胱氨酸残基的两亲性蛋白。子囊菌类中木霉富含这种蛋白^[39](从基因组序列中推断所知)。

1.3 木霉的防御响应

病原真菌能诱导木霉菌热休克反应、氧化应激和解毒过程的基因表达^[10,19](编码 ABC 转运蛋白和多效性和耐药性转运者)(图 1)。核盘菌形成菌核时分泌活性氧作为信号分子^[40],同时还分泌抗真菌的代谢物^[41],活性氧和抗真菌代谢物都可能诱发木霉的防御反应。敲除深绿木霉编码 ABC 转运蛋白基因 *Abc2* 导致其对核盘菌的生物防治能力减弱,证明该蛋白在重寄生过程中起解毒作用^[42]。

1.4 木霉菌对病原真菌的抑制作用

木霉分泌的抗真菌次生代谢物和细胞壁水解酶协同作用最终导致病原真菌的死亡。木霉菌基因组上富含编码合成次生代谢产物和细胞壁水解酶的基因,反映了这些物质在重寄生过程中起重要作用^[18]。比如绿色木霉和其它真菌相比有许多(28 个)非核糖体肽合成酶。此外,深绿木霉和绿色木霉同源基因(*T. jecorina* 没有)似乎可以编码合成次生代谢产物的蛋白^[18],从而代表未知抗菌化合物的合成机制。

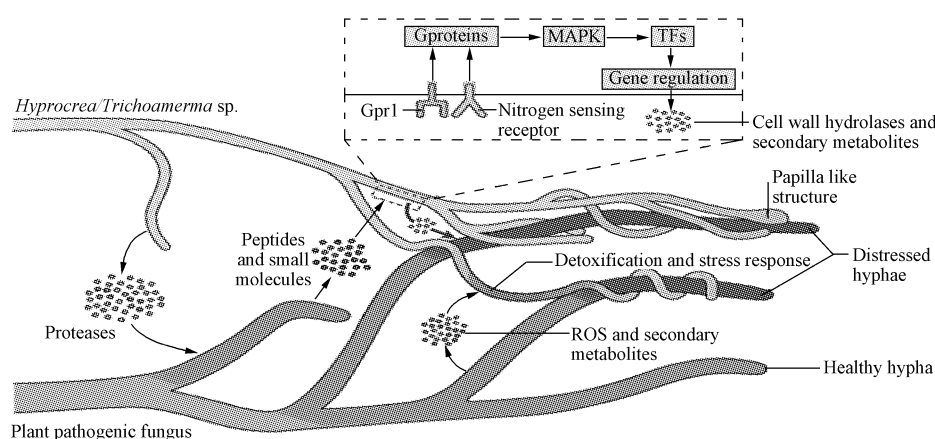


图1 土壤群落木霉属的重寄生

注:木霉通过病原菌释放的小分子物质来识别植物病原真菌。一些小分子物质可能是木霉与病原菌接触之前蛋白酶分泌的多肽类。这些小分子可能结合到木霉菌丝表面的G蛋白偶联受体或氮感受受体,从而引出包括G蛋白和有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPKs)的信号级联,这可能最终调节转录因子(TFS)的活动。这些因素,进而提高编码有关次生代谢产物的合成和细胞壁裂解的酶基因的组成型表达。来自致病真菌的凝集素和来自木霉菌丝的包含纤维素结合模块的蛋白在木霉菌连接到寄主时起协作作用。同时,植物病原真菌形成次生代谢产物和活性氧(ROS)来引起木霉应激反应和解毒作用。(引自 Trichoderma: the genomics of opportunistic success, Nature Reviews Microbiology 9, 749-759. 下同。)

病原真菌细胞壁主要由几丁质、 β -1,3-葡聚糖、 α -1,3-葡聚糖和 α -1,4-葡聚糖组成^[45],约占真菌细胞干重的30%,深绿木霉和绿色木霉含有很多几丁质酶^[39](分别为29个和36个)。几丁质酶Chit33和Chit42中添加纤维素结合模块提高了几丁质酶的活性,从而增加了哈茨木霉的重寄生能力^[44]。补加纤维素结合模块使这些几丁质酶更加紧密地结合不溶性甲壳素基质,一些来自木霉的几丁质酶在主动选择下进化的^[45],这是寄主和病原菌协同进化的典型特点。但由于基因重复,一些几丁质酶基因的缺失不会引起木霉重寄生能力或生物防治能力的减弱^[11,34]。木霉还包含GH57家族的扩展壳聚糖酶,这些酶能够水解壳聚糖,也能使几丁质(甲壳素)部分脱乙酰化^[18]。

真菌细胞壁第2个富含的是有 β -1,6-分支的 β -1,3-葡聚糖^[43],它可以被 β -1,3-葡聚糖酶水解。和其它真菌基因组相比,木霉基因组编码这种类型酶的基因过表达^[18]。木霉与其寄主真菌相互作用的区域发现 β -1,6-葡聚糖酶。哈茨木霉CECT 2413 β -1,6-葡聚糖酶Bgn16.3的过表达可以使它更有效的抑制灰霉病菌、核盘菌、柑桔褐腐疫霉菌的生长^[46]。哈茨木霉和绿色木霉 β -1,6-葡聚糖酶的高产表现出其对核盘菌、灰霉病菌、腐霉菌更有效的生物防治能力^[45,47]。

2 植物根际木霉菌的作用

Mulaw等^[48]研究表明,在植物的根际木霉丰富度最高;而Migheli等^[49]研究表明在非根际的土壤中木霉的物种多样性匮乏。植物根的分泌液为木霉生长提供了活体营养和腐生营养物质。木霉和植物根际的密切关系可以由其2种营养嗜好来解释,1种是92%陆生植物的根都被菌根真菌定殖,菌根真菌是菌根营养植物潜在的寄主,然而,木霉和菌根真菌之间的互作仍然知之

甚少^[50-52]。第2种是植物的根,尤其是根尖被根冠最外层细胞分泌的高度水化的多糖:果胶、半纤维素(尤其是rhamnogalacturonans和阿拉伯木聚糖)组成的凝胶状黏胶层(称作黏胶层)包围。木霉半纤维素酶很容易降解这些组分,这一作用可能进化为能利用腐木上的病原真菌释放的多糖,如哈茨木霉CECT 2413定殖在番茄根际需要多聚半乳糖醛酸内切酶^[13]。有一些研究表明,这2种类型的真菌之间具有协同作用,其它研究观察到木霉攻击丛枝菌根菌,抑制它们在植物根系的定殖。

植物根在根围分泌单糖和双糖类为菌根提供重要的碳源^[53]。绿色木霉定殖植物根时蔗糖也有类似的作用^[54]。绿色木霉、深绿木霉和*T. jecorina*基因组上包含编码细胞内(除细胞外)转化酶的基因,蔗糖水解之前被蔗糖透过酶吸收。绿色木霉定殖植物根的早期,其诱导特异性高的蔗糖转运蛋白,它的生化特性和植物蔗糖转运相似^[55],这表明蔗糖主动从植物转移到真菌。另外,深绿木霉和绿色木霉基因组有大量编码转运蛋白基因^[18],获得的其它根分泌液的作用仍然未知。总之,寄主真菌的存在和从根获得的营养素可能是吸引木霉属祖先定殖在根际并与植物互作的主要原因。

2.1 植物防御响应

植物以激活其潜在的防御机制来应对其它生物的存在,这是各种植物病原真菌引起植物2个分支的先天免疫防御机制的最好解释^[56]。第一阶段一般是病原体相关分子模式PAMPs或微生物相关分子模式(MAMPs)的识别,并对其做出反应-微生物普遍存在的分子模式被称为PAMP触发免疫。第二阶段,对病原体致病因素做出的响应称为效应因子触发的免疫。木霉使茉莉酸和乙烯信号途径的组分(如过氧化氢酶、过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶等)积累量达到最高来

诱导植物的系统抗性^[57](ISR)(图2)。木霉黏胶层以 endopectinases 释放糖醛酸来激活植物的防御机制^[13]。*T. asperelloides* 定殖黄瓜根的早期可以发现,植物识别 MAMPs 或与它们相互作用的早期,在细胞壁积累更多的纤维素和愈创葡聚糖并释放酚类化合物,以阻止木霉的进一步定殖^[58-59]。因为木霉不是植物病原真菌,所以它们预计不会引起第二阶段的植物固有的免疫反应。然而,棘孢木霉以浓度依赖型方式与黄瓜根相互作用的早期,诱导植物系统获得抗病性^[59](SAR,通常存在于第二阶段的植物免疫反应)。必须指出,这些影响仅对少数木霉种有过研究,特别是在能有效刺激植物防御的菌株里,即木霉 *T. asperelloides* T203、绿色木霉、以及原生质体融合杂种哈茨木霉 T-22 能有效刺激植物的防御。

木霉属几类分子作为 MAPKs,诱导植物防卫反应,如木聚糖,peptaibols,cerato-platanins(图2)。来自绿木霉(*T. viride*) ATCC '52438' 菌株的木聚糖内切酶 Eix (Xny2)是木霉属中首次发现能够刺激番茄和烟草中乙烯形成的蛋白^[60],但此菌株的分类地位尚未确定。有效的生防菌绿色木霉也分泌一种相同于 Eix 的木聚糖内切酶^[61]。在木霉 *T. jecorina* (在 JGI *T. reesei* v2.0 基因

组上蛋白识别号 123818)和绿色木霉(在 JGI *T. virens* Gv298 v2.0 基因组蛋白识别号为 72838)基因组上发现编码同源酶的基因。

值得注意的是,Eix 的催化作用在引起植物防御反应时的关键^[62-63]。因此,酶本身是 MAMP,而它的反应产物不是。事实上引起植物响应,Eix 与植物 Eix 受体 2 (Eix2;也被称为 LeEix 植物富含亮氨酸重复类受体蛋白超级家族的成员还携带内吞作用的信号介导受体)结合,这是诱导防御反应所必需的^[64-65]。此外,Eix 与植物受体结合导致细胞膜功能的改变,这也是刺激植物防卫反应所必需的条件^[66]。

通过扰乱编码 peptaibol 合成酶的基因来阻止 peptaibols(非核糖体多肽类)在绿色木霉中的合成,导致该菌株不能引起/诱导黄瓜 ISR,虽然这可通过添加 peptaibol 混合物来克服^[67]。peptaibols 诱导 ISR 的机制目前尚不清楚,可能与这些多肽改变细胞膜功能的能力有关。

Swollenin 是一种携带纤维素结合模块并能破坏植物细胞壁纤维素结晶结构的蛋白质^[68]。在棘孢木霉植物根际定殖时它起一定的作用,并能诱导植物本地防御反应不是系统诱导反应^[69]。Swollenin 与植物细胞壁扩展蛋白有相似性。植物细胞壁扩展蛋白是一类植物细胞壁蛋白,它能促进根和根毛中细胞壁的伸长^[70]。木霉在植物根际定殖时利用 swollenin 增加其在根际定殖区域。

Cerato-platanins 是以 4 个半胱氨酸残基形成 2 个二硫键为特点的小分子蛋白。绿色木霉 Cerato-platanin Sm1(也称为 Epl1)诱导玉米和棉花的系统诱导抗 ISR^[71]。SM1 在深绿木霉的同源基因(*Epl1*)是真菌分泌的主要蛋白之一^[72]。SM1 的糖基化使它保持单体形式从而诱导 ISR^[73]。去糖基化导致形成 SM1 二聚体,其不能诱导 ISR。研究表明,植物通过去糖基化改变 SM1 的聚集状态,最终影响其诱导防御反应的能力。*T. jecorina*、绿色木霉和深绿木霉分别有 3 个 sm1 旁系同源物,而大多数其它相关属真菌的只有 1 个,这表明 Cerato-platanin 可能对木霉属很重要。木霉基因组编码的其它富含半胱氨酸的小分子蛋白与担子菌类外生菌根双色蜡蘑小分子蛋白相似,累积在菌丝,并在根际定殖时有一定的作用^[74]。

2.2 促进植物生长

木霉和植物根互作可以促进植物生长(图2),如绿色木霉增加拟南芥根生物量和侧根的生长率。生长素介导的信号传递途径可能在木霉和植物相互作用上起一定的作用,植物途径缺陷型突变体与木霉相互作用的能力减弱^[75]。然而,植物激素乙烯的减少也可促进植物的生长^[76],*T. asperelloides* T203 有 1 个编码抑制乙烯生物合成重要中间产物 ACC 的 α -氨基环丙烷-1-羧酸脱氢酶(*acc1*)基因,该基因在 *T. asperelloide* 和油菜根互

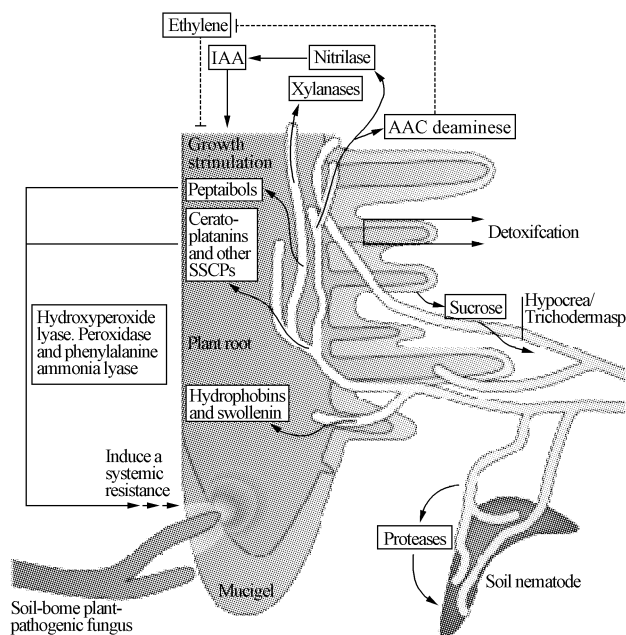


图2 木霉与根际其它生物体的相互作用

注:木霉菌丝释放一些物质来触发植物系统抗性。只显示了在根际发生的影响和由已知木霉引发的组分。Peptaibols 和 the cerato-platanin Sm1(有些种内以 Epl1 所知)诱发植物系统抗性,最终在植物内合成过氧化氢酶,过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶(引起木质化)。此外,木聚糖酶 EIX 可能充当微生物相关的分子模式诱发植物防卫反应。 α -氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)脱氢酶抑制乙烯的形成从而促进根系的生长,胍水解酶的组成型分泌有利于生长素 3-吲哚乙酸(IAA)的形成。木霉附着到植物根需要疏水蛋白和 swollenin。最后,木霉从植物根系中吸收蔗糖作为碳源,从而实现其更快生长。木霉的 nematophagy 可能涉及几丁质酶,类枯草杆菌 S8 蛋白酶,SSCPs 类,富含半胱氨酸的小分泌蛋白。

作过程中表达。敲除这个基因时木霉促进根延长的作用减少,因为持续高浓度的乙烯会抑制根的伸长,所以 Acc1 酶在木霉促进植物生长过程中起到非常重要的作用^[7]。

与其它子囊菌类相比,木霉菌基因组中包含许多编码脲水解酶的基因^[18]。脲水解酶在水解 β -cyanol-alanine (由氰化物组成的代谢物,乙烯生物合成最后一步释放)或植物代谢产物吲哚-3-乙腈转换成吲哚-3-乙酸(IAA,促进植物根系生长的激素)有一定的作用^[77]。

3 内生菌

植物中普遍存在细菌和真菌等内生菌,内生菌发挥刺激植物生长、延迟干旱胁迫和阻止病原体侵害等作用^[78]。虽然其它许多种类可以表现为兼内生真菌,但只有少数木霉作为内生真菌被分离出来。除了木霉 *T. koningiopsis*, *T. stilbohypoxyli* 外,几乎所有分离的内生真菌已被列为新种。*T. stromaticum* 没有已知的有性型。系统发育分析将它们放在它们分支的末端位置^[79]。一些物种例如 *Trichoderma hamatum* 即作为植物内生菌,也作为土壤和根际习居菌,这样的特点也是其它许多机会性真菌的属性^[80]。因此尚不清楚木霉属是否存在专性内生菌。有趣的是,定殖在马铃薯根的丛枝菌根的菌丝体外侧被木霉用来进入植物根部^[81],这表明有关菌根营养的特性促进内生菌的进化。木霉属被分离的内生性木霉菌株基因组尚未被测序。

综上所述,木霉菌在植物真菌病害防治中较其它生防菌在生防效果上占有优势。从木霉对寄主病原真菌的识别并附着在其菌丝上,木霉对寄主病原真菌存在的响应,最后杀死寄主病原真菌,从这 4 方面对木霉和病原菌的相互作用机制在分子水平方面具有明显的优势;此外,木霉菌还能刺激植物防御响应和促进植物生长,上述 2 个方面说明了木霉菌在植物根际所发挥的重要作用。最后,木霉菌作为内生菌在植物体内发挥作用,不仅能够促进植物生长,还具有延迟干旱胁迫和阻止病原体侵害等功能。

由于木霉菌在植物病害生物防治上具有一定优势,美国能源部联合基因组研究所开展了大规模木霉属(如哈茨木霉、棘孢木霉、深绿木霉和绿色木霉)基因组测序项目“JGI Fungal Genetics Program”,使人类能够在基因组水平上更全面、科学地分析木霉的特性。这不仅将帮助了解木霉生物防治的分子生物学基础,同时也促进了木霉在生物技术、农业和其它领域的应用提供理论指导。

(该文作者还有范海娟,单位同第一作者。)

参考文献

[1] Tondje P, Roberts D, Bon M, et al. Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in cameroon[J]. Biological Control, 2007, 43(2): 202-212.

[2] Hanada R E, Pomella A W, Soberanis W, et al. Biocontrol potential of *trichoderma martiale* against the black pod disease(*Phytophthora palmivora*) of cacao[J]. Biological Control, 2009, 50(2): 143-149.

[3] Olson H A, Benson D M. Induced systemic resistance and the role of binucleate *Rhizoctonia* and *Trichoderma hamatum* 382 in biocontrol of botrytis blight in geranium[J]. Biological Control, 2007, 42(2): 233-241.

[4] Chen L, Yang X, Raza W, et al. Solid-state fermentation of agro-industrial wastes to produce bioorganic fertilizer for the biocontrol of Fusarium wilt of cucumber in continuously cropped soil [J]. Bioresour Technol, 2011, 102(4): 3900-3910.

[5] Segarra G, Casanova E, Avilés M, et al. *Trichoderma asperellum* strain T34 controls fusarium wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron[J]. Microb Ecol, 2010, 59(1): 141-149.

[6] 郭润芳, 史宝胜, 高宝嘉, 等. 木霉菌在植病生物防治中的应用[J]. 河北林果研究, 2001, 16(3): 294-298.

[7] Viterbo A, Landau U, Kim S, et al. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203[J]. FEMS Microbiol Lett, 2010, 305(1): 42-48.

[8] Vizcaino J A, González F J, Suárez M B, et al. Generation, annotation and analysis of ESTs from *Trichoderma harzianum* CECT 2413[J]. BMC Genomics, 2006(7): 193.

[9] Vizcaino J A, Redondo J, Suárez M B, et al. Generation, annotation and analysis of ESTs from four different *Trichoderma* strains grown under conditions related to biocontrol [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 75: 853-862.

[10] Lorito M, Woo S L, Harman G E, et al. Translational research on *Trichoderma*: From omics to the field[J]. Annu Rev of Phytopathol, 2010, 48: 395-417.

[11] Benitez T, Rincon A M, Limon M C, et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains[J]. Int Microbiol, 2004(7): 249-260.

[12] Liu Y, Yang Q. Cloning and heterologous expression of SS10, a Subtilisin-like protease displaying antifungal activity from *Trichoderma harzianum* [J]. FEMS Microbiol Lett, 2009, 290: 54-61.

[13] Morán-Díez E, Hermosa R, Ambrosino P, et al. The ThPG1 endopolygalacturonase is required for the *Trichoderma harzianum* - plant beneficial interaction[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2009, 22(8): 1021-1031.

[14] Elad Y. Biocontrol of foliar pathogens: mechanisms and application[J]. Commun Agric Appl Biol Sci, 2003, 68: 17-24.

[15] Anees M, Tronsmo A, Edel-Hermann V, et al. Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani* [J]. Fungal Biology, 2010, 114(9): 691-701.

[16] Tijerino A, Cardoza R E, Moraga J, et al. Overexpression of the trichodiene synthase Gene *tri5* increases *Trichodermin* production and antimicrobial activity in *Trichoderma brevicompactum* [J]. Fungal Genet Biol, 2011, 48(3): 285-296.

[17] Harman G E. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity [J]. New Phytol, 2011, 189(3): 647-649.

[18] Kubicek C P, Herrera-Estrella A, Seidl-Seiboth Verena, et al. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma* [J]. Genome Biol, 2011, 12(4): R40.

[19] Seidl V, Song L, Lindquist, et al. Transcriptomic response of the mycoparasitic fungus *Trichoderma atroviride* to the presence of a fungal prey[J]. BMC Genomics, 2009(10): 567.

[20] Suárez M B, Vizcaino J A, Llobell A, et al. Characterization of genes encoding novel peptidases in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* CECT 2413 using the TrichoEST functional genomics approach [J]. Curr Genet, 2007, 51(5): 331-342.

- [21] Flores A, Chet I, Herrera-Estrella A. Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene *prb1*[J]. Curr Genet, 1997, 31(1): 30-37.
- [22] Dijksterhuis J, Veenhuis M, Harder W, et al. Nematophagous fungi: physiological aspects and structure-function relationships [J]. Adv Microb Physiol, 1994, 36: 111-143.
- [23] Omann M. A cAMP receptor-like GPCR is involved in *Trichoderma atroviride* mycoparasitism[J]. IOBC/WPRS Bull, 2009, 43: 105-108.
- [24] Rocha-Ramirez V, Omero C, Chet I, et al. *Trichoderma atroviride* G_i-protein α -subunit Gene *tga1* is involved in mycoparasitic coiling and conidiation[J]. Eukaryot Cell, 2002, 1(4): 594-605.
- [25] Reithner B, Brunner K, Schuhmacher R, et al. The G-protein α -subunit Tga1 of *Trichoderma atroviride* is involved in chitinase formation and differential production of antifungal metabolites[J]. Fungal Genet Biol, 2004, 42(9): 749-760.
- [26] Mukherjee P K, Latha J, Hadar R, et al. Role of two G-protein alpha subunits, TgaA and TgaB, in the antagonism of plant pathogens by *Trichoderma virens*[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(1): 542-549.
- [27] Schmoll M. The information highways of a biotechnological workhorse-signal transduction in *Hypocrea jecorina*[J]. BMC Genomic, 2008(9): 430.
- [28] Mukherjee P K, Latha J, Hadar R, et al. TmkA, a mitogen-activated protein kinase of *Trichoderma virens*, is involved in biocontrol properties and repression of conidiation in the dark[J]. Eukaryot Cell, 2003, 2(3): 446-455.
- [29] Viterbo A, Harel M, Horwitz B A, et al. *Trichoderma* mitogen-activated protein kinase signaling is involved in induction of plant systemic resistance [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(10): 6241-6246.
- [30] Mendoza-Mendoza A, Rosales-Saavedra Teresa, Cortés Carlos, et al. The MAP kinase TVK1 regulates conidiation, hydrophobicity and the expression of genes encoding cell wall proteins in the fungus *Trichoderma virens*[J]. Microbiology, 2007, 153(7): 2137-2147.
- [31] Reithner B, Schuhmacher R, Stoppacher N, et al. Signaling via the *Trichoderma atroviride* mitogen-activated protein kinase Tmk1 differentially affects mycoparasitism and plant protection [J]. Fungal Gene Biol, 2007, 44(11): 1123-1133.
- [32] Kumar A, Scher K, Mukherjee M, et al. Overlapping and distinct functions of two *Trichoderma virens* MAP kinases in cell-wall integrity, antagonistic properties and repression of conidiation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 398(4): 765-770.
- [33] Delgado-Jarana J, Sousa S, González F, et al. *ThHog1* controls the hyperosmotic response in *Trichoderma harzianum* [J]. Microbiology, 2006, 162(6): 1687-1700.
- [34] Harman G E, Howell C R, Viterbo A, et al. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts[J]. Nature Rev Microbiol, 2004(2): 43-56.
- [35] Inbar J, Chet I. The role of lectins in recognition and adhesion of the mycoparasitic fungus *Trichoderma* spp. to its host[J]. Adv Exp Med Biol, 1996, 408: 229-231.
- [36] Lu Z, Tombolini R, Woo S, et al. In vivo study of *Trichoderma*-pathogen-plant interactions, using constitutive and inducible green fluorescent protein reporter systems[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(5): 3073-3081.
- [37] Chacón M R, Rodríguez-Galán O, Benítez T, et al. Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*[J]. Int Microbiol, 2007, 10(1): 19-27.
- [38] de Jong J C, Mc Cormack B J, Smirnoff N, et al. Glycerol generates turgor in rice blast[J]. Nature, 1997, 389: 244-245.
- [39] Kubicek C P, Baker S, Gamauf C, et al. Purifying selection and birth-and-death evolution in the lass II Hydrophobin Gene Families of the Ascomycete *Trichoderma / Hypocrea*[J]. BMC Evol Biol, 2008, 8(1): 4.
- [40] Papapostolou I, Georgiou C D. Superoxide radical induces sclerotial differentiation in filamentous phytopathogenic fungi; a superoxide dismutase mimetics study[J]. Microbiology, 2010, 156(3): 960-966.
- [41] Aliferis K A, Jabaji S. Metabolite composition and bioactivity of *Rhizoctonia solani* sclerotial exudates[J]. Agric Food Chem, 2010, 58(13): 7604-7615.
- [42] Ruocco M, Michelina R, Lanzuise S, et al. Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*; the role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi[J]. Mol Plant Microbe Interact, 2009, 22(3): 291-301.
- [43] Latgé J P. The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell[J]. Mol Microbiol, 2007, 66(2): 279-290.
- [44] Limón M C, Chacón M R, Mejías R, et al. Increased antifungal and chitinase specific activities of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 by addition of a cellulose binding domain [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2004, 64(5): 675-685.
- [45] Ihrmark K, Asmail N, Ubhayasekera W, et al. Comparative molecular evolution of *Trichoderma* chitinases in response to mycoparasitic interactions [J]. Evol Bioinform Online, 2010(6): 1-26.
- [46] Montero M, Sanz L, Rey M, et al. Cloning and characterization of *bgn* 16 • 3, coding for a β -1,6-glucanase expressed during *Trichoderma harzianum* mycoparasitism[J]. Appl Microbiol, 2007, 103(4): 1291-1300.
- [47] Djonovic S, Pozo M J, Kenerley C M. Tvbn 3, β -1,6-glucanase from the biocontrol fungus *Trichoderma virens*, is involved in mycoparasitism and control of *Pythium ultimum* [J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(12): 7661-7670.
- [48] Mulaw T B, Kubicek C P, Druzhinina I S. The rhizosphere of *Coffea arabica* in its native highland forests of Ethiopia is associated with a distinguished diversity of *Trichoderma* [J]. Diversity, 2010, 2(4): 527-549.
- [49] Migheli Q, Balmas V, Komoń-Zelazowska M, et al. Soils of a Mediterranean hot spot of biodiversity and endemism (Sardinia, Tyrrhenian Islands) are inhabited by Pan-European, Invasive Species of *Hypocrea / Trichoderma* [J]. Environ Microbiol, 2009, 11(1): 35-46.
- [50] Calvet C, Pera J, Barea J M. Growth response of marigold (*Tagetes erecta* L.) to inoculation with *Glomus mosseae*, *Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in a peat-perlite mixture[J]. Plant Soil, 1993, 148(1): 1-6.
- [51] Datnoff L E, Nemecek S, Pernezy K. Biological control of fusarium crown and root rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*[J]. Biol Control, 1995, 5(3): 427-431.
- [52] Green H, Larsen J, Olsson P A, et al. Suppression of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* by mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in root-free soil[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(4): 1428-1434.
- [53] Nehls U, Göhringer F, Wittulsky S, et al. Fungal carbohydrate support in the ectomycorrhizal symbiosis: a review [J]. Plant Biol, 2010, 12(2): 292-301.
- [54] Vargas W A, Mandawe J C, Kenerley C M. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants[J]. Plant Physiol, 2009, 151(2): 792-808.
- [55] Vargas W A, Crutcher F K, Kenerley C M. Functional characterization of a plant-like sucrose transporter from the beneficial fungus *Trichoderma virens*, regulation of the symbiotic association with plants by sucrose metabolism inside the fungal cells[J]. New Phytol, 2011, 189(3): 777-789.
- [56] Jones J D, Dangl J L. The plant immune system[J]. Nature, 2006, 444: 323-329.
- [57] Shores M, Harman G E, Mastouri F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents[J]. Annu Rev Phytopathol, 2010, 48: 21-43.

- [58] Yedidia I, Benhamou N, Chet I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(3):1061-1070.
- [59] Segarra G, Casanova E, Bellido D, et al. Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum* strain T34[J]. Proteomics, 2007, 7(21):3943-3952.
- [60] Dean J F, Anderson J D. Ethylene biosynthesis-inducing xylanase; II purification and physical characterization of the enzyme produced by *Trichoderma viride*[J]. Plant Physiol, 1991, 95(1):316-323.
- [61] Hanson L E, Howell C R. Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*[J]. Phytopathol, 2004, 94(2):171-176.
- [62] Enkerli J, Felix G, Boller T. The enzymatic activity of fungal xylanase is not necessary for its elicitor activity[J]. Plant Physiol, 1999, 121(2):391-397.
- [63] Sharon A, Fuchs Y, Anderson J D. The elicitation of ethylene biosynthesis by a *Trichoderma* xylanase is not related to the cell wall degradation activity of the enzyme[J]. Plant Physiol, 1993, 102(4):1325-1329.
- [64] Ron M, Avni A. The receptor for the fungal elicitor ethylene-inducing xylanase is a member of a resistance-like gene family in tomato[J]. Plant Cell, 2004, 16(6):1604-1615.
- [65] Bar M, Avni A. EHD2 inhibits ligand-induced endocytosis and signaling of the leucine-rich repeat receptor-like protein LeEix2[J]. Plant, 2009, 59(4):600-611.
- [66] Bailey B A, Korcak R F, Anderson J D. Alterations in *Nicotiana tabacum* L. cv *xanthi* cell membrane function following treatment with an ethylene biosynthesis-inducing endoxylanase[J]. Plant Physiol, 1992, 100(2):749-755.
- [67] Viterbo A, Wiest A, Brotman Y, et al. The 18mer peptaibols from *Trichoderma virens* elicit plant defence responses[J]. Mol Plant Pathol, 2007, 8(6):737-746.
- [68] Saloheimo M, Paloheimo Marja, Hakola S, et al. Swollenin, a *Trichoderma reesei* protein with sequence similarity to the plant expansins, exhibits disruption activity on cellulosic materials[J]. Eur J Biochem, 2002, 269(17):4202-4211.
- [69] Brotman Y, Briff E, Viterbo A, et al. Role of swollenin, an expansin-like protein from *Trichoderma*, in plant root colonization[J]. Plant Physiol, 2008, 147(2):779-789.
- [70] Guo W, Zhao J, Li X, et al. Soybean β -expansin gene *GmEXPB2* intrinsically involved in root system architecture responses to abiotic stresses[J]. Plant J, 2011, 66(3):541-552.
- [71] Djonovic S, Vargas W A, Kolomiets M V, et al. A proteinaceous elicitor Sm1 from the beneficial fungus *Trichoderma virens* is required for induced systemic resistance in maize[J]. Plant Physiol, 2007, 145(3):875-889.
- [72] Seidl V, Marchetti M, Schandl R, et al. Epl1, the major secreted protein of *Hypocrea atroviridis* on glucose, is a member of a strongly conserved protein family comprising plant defense response elicitors[J]. FEBS Journal, 2006, 273(18):4346-4359.
- [73] Vargas W A, Djonovic S, Sukno S A, et al. Dimerization controls the activity of fungal elicitors that trigger systemic resistance in plants[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2008, 283:19804-19815.
- [74] Martin F, Aerts A, Ahren D, et al. The genome of *Laccaria bicolor* provides insights into mycorrhizal symbiosis[J]. Nature, 2008, 452:88-92.
- [75] Contreras-Cornejo H A, Macias-Rodriguez L, Cortes-Penagos C, et al. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiol, 2009, 149(3):1579-1592.
- [76] Wang K, Li H, Ecker J. Ethylene biosynthesis and signaling networks[J]. Plant Cell, 2002, 14 (suppl):S131-S151.
- [77] Piotrowski M, Volmer J J. Cyanide metabolism in higher plants; cyanide-alanine hydratase is a NIT4 homolog[J]. Plant Mol Biol, 2006, 61:111-122.
- [78] Bae H, Sicher R C, Kim M S, et al. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*[J]. J Exp Bot, 2009, 60(11):3279-3295.
- [79] Chaverri P, Gazis R O, Samuels G J. *Trichoderma amazonicum*, a new endophytic species on *Hevea brasiliensis* and *H. guianensis* from the Amazon basin[J]. Mycologia, 2011, 103(1):139-151.
- [80] Rodriguez R J, White J F, Arnold A E, et al. Fungal endophytes: diversity and functional roles[J]. New Phytol, 2009, 182(2):314-330.
- [81] de Jaeger N, Declercq S, de la Providencia I E. Mycoparasitism of arbuscular mycorrhizal fungi; a pathway for the entry of saprotrophic fungi into roots[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2010, 3(2):312-322.

Molecular Mechanism of Biological Control of *Trichoderma* spp.

MIJITI Gulijimila, WANG Zhi-ying, WANG Na, DOU Kai, HUANG Ying, LIU Zhi-hua, FAN Hai-juan
(College of Forest, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract: *Trichoderma* spp. is an effective bio-control agent for controlling fungal plant pathogen. On the basis of a brief introduction of *Trichoderma* and its bio-control mechanism, the interaction between *Trichoderma* and pathogens was summarized. Through the competition for nutrients and space, the growth and propagation of pathogens were inhibited, the hyperparasitism of *Trichoderma* spp. to pathogenic fungi, *Trichoderma* spp. produced antibiotics to inhibit or kill pathogenic fungi, *Trichoderma* spp. promoted plant growth and induced plant systemic resistance responses, etc., in order to provide a theoretical guidance for the role of *Trichoderma* spp. in biological control mechanisms for plant fungus diseases.

Key words: *Trichoderma*; plant pathogens; biological control