

木霉在植物病害生物防治中的应用及作用机制

尤佳琪¹, 吴明德^{2*}, 李国庆²

(1. 上海市农业科学院园艺研究所, 上海 201106; 2. 华中农业大学农业微生物国家重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 木霉是植物病害生物防治中应用和研究非常广泛的一类生防真菌。本文阐述了木霉在多种植物病害防治上的应用及防治效果, 并概括了木霉在生防过程中对植物病原物的生防机制, 包括竞争、重寄生、抗生作用等, 以及木霉与植物互作中对植物促生和诱导植物抗性的机制。目前, 世界上含木霉的商品化制剂已超过 250 种, 在不同国家地区都取得了良好的防治效果, 更多的优秀生防木霉菌株也在通过野生菌株筛选或遗传改良等方式开发。木霉生物防治及机制研究对推广生物防治和减少化学农药有重要意义。

关键词: 木霉; 植物病害; 生物防治; 木霉商品化制剂

中图分类号: S476 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-9261(2019)06-0966-11

Application and Mechanism of *Trichoderma* in Biological Control of Plant Disease

YOU Jiaqi¹, WU Mingde^{2*}, LI Guoqing²

(1. Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China; 2. State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: *Trichoderma* spp. are widely studied biological control agents (BCA) and have been used worldwide for plant disease control. The application and control efficiency of *Trichoderma* in control of plant diseases was reviewed in this paper. The multiple biocontrol mechanisms of *Trichoderma* against pathogens, including competition, mycoparasitism and antifungal activity, as well as the interaction with plant (plant growth promotion and induced resistance), were summarized. More than 250 *Trichoderma*-based bio-products have been commercialized and successfully used in different area of the world, exploration of more potential *Trichoderma* isolates by screening or genetic improvement are still processing. The researches of *Trichoderma*-based biocontrol and the mechanism have outstanding contributions to the application of biocontrol and the reduction of chemical fungicide use.

Key words: *Trichoderma*; plant disease; biological control; *Trichoderma*-based commercial products

近年来, 人们对农业生产中化学杀菌剂对生态环境和人畜健康的危害越来越重视, 更加迫切地需要寻找安全有效且环境友好型的植物病害防治替代措施。生物防治措施是减少和替代化学农药的最有效方式之一。木霉是植物病害生物防治中应用和研究非常广泛的一类生防真菌, 广泛存在于土壤和各种环境中, 不仅具有良好的环境适应性, 而且对多种植物病害的防治效果十分显著。本文对木霉的生物学概况、生物防治中的应用、生物防治机制以及商品化菌株开发等多个方面系统地阐述了木霉在生物防治领域的研究进展, 并且对木霉在生物防治中存在的问题和未来的应用前景进行了初步探讨, 为今后木霉在生物防治中的研究和应用提供参考。

1 木霉属的分类、分布及生物学特性

木霉属 *Trichoderma* spp. 真菌无性态属于半知菌类 Deuteromycotina、丝孢纲 Deuteromycotina、丝孢目

收稿日期: 2019-03-26

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0200900)

作者简介: 尤佳琪, 博士, 助理研究员, E-mail: youjiaqi270@sina.com; *通信作者, 博士, 副教授, E-mail: mingde@mail.hzau.edu.cn。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2019.06.025

Hyphomycetales, 其有性阶段为子囊菌门 Ascomycota、肉座目 Hypocreales、肉座科 Hypocreaceae、肉座菌属 *Hypocrea* spp.。木霉属是 Persoon 于 1794 年建立的, 目前已经报道的木霉菌已经超过 250 个^[1]。过去对于木霉的鉴定主要依赖形态学观察, 显微形态是木霉鉴定的重要依据, 特别是分生孢子梗的分支形态。后来, 随着分子生物学研究技术的发展, 通过分子水平上的系统演化分析, 建立了基于 ITS 序列的 DNA 条形码系统快速鉴定木霉的技术^[2], 并整合为标签鉴定系统 TrichOKey (<http://www.isth.info>), 用户通过对 ITS 序列的扩增测序后, 将序列输入该网站, 就能直接获得关于木霉菌的鉴定结果。

木霉是世界广泛分布的真菌, 低纬度地区和高纬度地区木霉菌种群结构有差异, 例如多孢木霉 *T. polysporum* 和微孢毛霉 *T. minutisporum* 更适应气候凉爽的地区, 而绿色木霉 *T. viride* 在低纬度地区较为罕见, 拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 则在世界各地都较为常见^[3]。木霉可以在多种基质中生存, 土壤是最普遍的基质, 因此常被认为是土壤习居真菌。木霉也可以腐生于木材、稻草等基质中, 甚至在不锈钢、柴油、沥青等基质中也发现过木霉的踪迹^[4], 可见木霉的生命力强, 能够利用各种有机及无机的营养源来生长繁殖。木霉还能作为一些其他大型真菌的伴生菌^[5], 而在食用菌生产上, 木霉则是一种病原菌^[6]。木霉是需氧菌, 但在氧气不足的环境中也能生长。木霉是机会性的植物内生菌, 具有定殖植物的能力, 一般不引起植物病害, 对植物有促进和诱导系统抗性的潜力^[7]。

木霉在培养基上通常先产生基内生菌丝, 菌落上产生的产孢簇多为绿色或黄绿色, 含大量的分生孢子^[8]。木霉对环境的适应力强, 温暖湿润的环境最利于木霉生长。木霉的最适生长温度一般在 20 °C~28 °C, 但在 6 °C~32 °C 下依然可以生长; 木霉的生长适宜于高湿度, 90% 以上空气相对湿度有利于木霉生长及产孢; 光照对木霉菌丝生长影响不大, 但光照条件下有利于木霉产生分生孢子, 其中 380 和 440 nm 波长的光最适宜诱导木霉产孢; 木霉能够在 pH 1.5~9.0 生长, 其中生长的最适 pH 5~5.5; 木霉能够利用多种碳源和氮源, 其中葡萄糖、淀粉等糖类碳源和铵类氮源更容易被木霉利用; 镁、铜、铁等无机盐离子对木霉的生长和产孢有重要作用; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA) 是木霉生长最常用的培养基^[8]。在适宜的培养条件下多数种类的木霉菌丝生长较迅速, 分生孢子产量大。木霉常常在菌丝上形成圆形或者椭圆形的厚垣孢子, 厚垣孢子有较强的抗逆性, 在木霉存活中起重要作用^[8]。

2 木霉在植物病害生物防治中的应用

利用木霉防治植物病害的研究起源于 1932 年, Weindling 首次发现木素木霉 *Trichoderma lignorum* 对植物病原真菌立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* 的菌丝有重寄生作用^[9]。接着便有许多关于利用木霉进行植物病害生物防治的研究成果发表。据统计, 木霉至少对 18 个属 29 个种的植物病原真菌有拮抗作用^[10]。木霉对许多种植物病害都有防治效果, 涉及的植物病原真菌包括炭疽菌 *Colletotrichum* spp.^[11,12], 尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*^[13]、茄链格孢菌 *Alternaria solani*^[14,15]、核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum*^[16]、葡萄孢属真菌 *Botrytis* spp.^[17-19] 和立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*^[9]; 植物病原细菌, 包括丁香假单胞菌 *Pseudomonas syringae*^[20]、黄单胞菌 *Xanthomonas*^[21] 等; 以及植物病原线虫, 包括小麦禾谷孢囊线虫 *Heterodera avenae* 等^[22]。

世界各地都有利用木霉进行植物病害生物防治的研究报道。在温室及田间环境下, 木霉对多种作物的多种病原菌都有明显的防效, 还能起到促进植物生长和增加作物产量的效果。如, 将哈茨木霉 *T. harzianum* 发酵物 140 kg/ha 施用于花生田 (70~100 d 苗龄), 对立枯丝核菌引起的花生立枯病有显著防效^[23]。哈茨木霉制剂施用到甜菜根际 (用量: 1.9×10^5 CFU/g 土壤), 对立枯丝核菌引起的甜菜病害有一定防效^[23]。哈茨木霉发酵物对腐霉菌引起的黄瓜和菜豆幼苗猝倒病有良好防效。与没有使用木霉的对照相比, 幼苗猝倒率减少了 1 到 3 成^[24]。哈茨木霉对白腐小核菌 *Sclerotium cepivorum* 引起的洋葱根部腐烂病有生防潜力^[25]。用哈茨木霉制剂进行植物种子包衣处理后, 使黄瓜和莴苣幼苗腐烂病 (核盘菌引起) 发病率分别减少 80% 和 72%^[26]。Rojo 等^[27]2004 和 2005 年的田间试验表明, 用哈茨木霉 ITEM 3636 和长枝木霉 ITEM 3635 包衣花生种子能有效防治由腐皮镰刀菌 *F. solani* 引起的花生幼苗褐根腐病, 并且对花生有增产功效。在温室条件下, 用哈茨木霉菌株 T82 和木霉菌株 NF9 麸皮培养物 (10^7 CFU/g) 处理土壤 (用量: 0.6%, W/W), 对黄瓜白绢病菌、立枯丝核菌及瓜果腐霉的抑制率分别达到 46.5%、28.4% 和 81.2%; 用这 2 个木霉菌株分

别处理黄瓜种子, 黄瓜苗期白绢病发病率分别下降 14%和 20%^[28]。棘孢木霉 *T. asperellum* T8a 在离体和活体条件下对芒果炭疽菌 *C. gloeosporioides* 有抑制作用^[12]。拟康氏木霉 SMF2 能够显著降低 *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* 引起的大白菜叶柄软腐病病害严重度, 且显著提高大白菜地上部和根系鲜重、根冠比值, 显示出促生作用^[29]。在玉米种子上包裹木霉培养物, 在温室条件下对于弯孢叶斑病的防效达到 20.69%~72.74%, 其中木霉 H6 在田间试验中对玉米弯孢叶斑病的防效可达到 50%~70%^[30]。用木霉 T-97 处理土壤, 对茄子黄萎病、茄子菌核病、黄瓜枯萎病和黄瓜菌核病以及对豌豆根腐病等病害防治效果达到 66%~81%。用木霉菌株 T-97 分生孢子悬浮液 (10^8 CFU/mL) 在花期喷雾, 对黄瓜、辣椒和番茄灰霉病有明显防治效果^[31]。

将化学农药和木霉菌剂结合使用是目前最为优化的策略, 使用杀菌剂将病原菌迅速控制在较低水平, 而木霉存在能够使植物长期受益^[32]。这种策略既能够减少化学农药使用次数, 又有利于植物生长, 达到减施化学农药和化肥的效果。

3 木霉对植物病原菌的生物防治机制

木霉与植物病原菌的互作机制是多种多样的, 其中包括竞争作用、重寄生作用、抗生作用以及诱导植物抗性作用^[7,33,34]。

3.1 木霉与植物病原菌的竞争作用

木霉能够适应多种土壤环境, 菌丝生长速度快, 能够在植物根际附近与病原菌竞争营养和生存空间, 并且在植物表面周围占领病原菌的入侵位点, 从而达到控制病原菌侵染植物的效果^[35]。木霉对多种除草剂、杀菌剂、杀虫剂、酚类等多种化合物有天然的抗性^[36], 这利于木霉在农业土壤环境中稳定地发挥作用。木霉对土壤中的营养利用率高, 能够利用环境中的多种糖类, 包括纤维素、葡聚糖和几丁质等^[36]。除了对基本碳氮源营养的竞争之外, 木霉还参与对微量元素的竞争。对于许多土壤微生物而言, 铁离子对其生长十分重要, 木霉对铁离子有很强的螯合作用, 能够在土壤中与病原菌竞争铁离子, 从而达到控制病原菌生长的效果^[37]。

3.2 木霉对植物病原真菌的重寄生作用

木霉对病原物最直接的生防机制是重寄生作用。木霉对多种植物病原真菌以及植物病原线虫都有重寄生能力。寄主真菌细胞表面的凝集素是诱导木霉菌产生细胞壁降解酶和进行重寄生作用的重要信号分子。异源三聚体 G 蛋白信号、MAPK 和 cAMP 等是木霉重寄生过程中的重要调控信号^[38-40]。在木霉的重寄生过程中, 木霉通过产生大量真菌细胞壁的降解酶来降解病原菌的细胞壁, 从而达到寄生和杀死病原菌的效果。木霉产生的细胞壁降解酶类 (CWDEs) 主要包括几丁质酶、葡聚糖酶、蛋白酶等^[36]。重要的是, 木霉所含的几丁质酶基因是在所有丝状真菌里最多的, 其他真菌一般含有糖苷水解酶 GH18 (Glycoside Hydrolase 18) 家族的几丁质酶 10~20 个, 但一些木霉可以达到 30 个以上^[41], 因此, 木霉也是几丁质酶等细胞壁降解酶类的工业生产工程菌^[42]。木霉产生的氨基葡萄糖苷酶 NAG1 和 NAG2 是其降解几丁质所必须的, 这两个酶所作用的位点不同, 其中 NAG1 作用于胞外, NAG2 作用于自身细胞壁, 这也是木霉在重寄生过程中保护自身细胞壁不被降解的机制之一^[41]。

根据对 7 种不同木霉的基因组信息分析发现, 重寄生可能是木霉的一种原始生活方式^[43]。重寄生作用包含识别、接触、缠绕、穿透和寄生等一系列过程^[44]。木霉分泌的细胞壁降解酶类 (CWDEs) 在整个重寄生过程中都极其重要。首先, 在木霉与病原菌还没有物理接触的时候, 木霉通过分泌少量细胞壁降解酶类到胞外, 这些细胞壁降解酶是木霉识别寄主的重要因子, 当这些酶类遇到真菌寄主的细胞壁时, 会降解部分细胞壁, 降解后的低聚产物释放出来后成为识别信号, 当木霉接收到这些来自寄主真菌细胞壁分解产物的信号后, 会诱导木霉分泌更多细胞壁降解酶, 并且引导木霉向真菌猎物的方向进行定向生长^[45,46]。当木霉和寄主真菌发生物理接触后, 木霉菌丝会将寄主真菌的菌丝缠绕或者与寄主菌丝平行生长^[47], 在此过程中, 木霉通过产生细胞壁降解酶类和一些抗真菌物质使寄主的菌丝穿孔破裂, 从而使木霉能够侵入寄主^[48]。细胞壁降解酶或抗真菌物质的产生存在着菌株间或种间差异, 如 Atanasova 等^[49]研究深绿木霉 *T. atroviride*、绿木霉 *T. virens* 和里氏木霉 *T. reesei* 的转录组分析发现, 这 3 种生防木霉在与寄主菌丝接触

之前所发生的基因表达并不相同,其中深绿木霉转录组中与重寄生相关的基因如 β -葡聚糖酶、蛋白酶等基因表达上调,而绿木霉则更多的表达了与抗真菌物质相关的基因,例如合成胶霉素等,里氏木霉则大量表达与纤维素酶和半纤维素酶合成的相关基因,这表明在不同木霉之间的生防模式倾向性有差异。Dos 等^[50]曾观察哈茨木霉在与立枯丝核菌接触的缠绕频率,发现不同菌株间缠绕频率并不相同,但木霉菌株对病原菌菌丝缠绕频率与产生细胞壁降解酶活性并没有关联。

3.3 木霉产生的抑菌物质

木霉产生的抗生性次级代谢产物种类繁多,从1932年Weindling发现胶霉毒素(gliotoxin)到目前,从木霉中分离到的抗生性代谢产物已超过了140种,包括挥发性和非挥发性物质,其中已经发现多种次级代谢物对植物病原微生物具有抑制活性。Reino 等^[51]将已报道的所有木霉产生的次级代谢物质进行了概括总结,包括蒽醌类(anthraquinones)、Daucanes、吡喃酮类(pyrones)、koninginins、richodermamides、viridins、viridifungins、含氮杂环类化合物(nitrogen heterocyclic compounds)、Trichodenones及环戊烯酮衍生物、azaphilones、harzialactones及衍生物、丁烯羟类(butenolides)、单端孢素(trichothecenes)、Isocyano metabolites、setin-like metabolites、bisorbicillinoids、diketopiperazines、麦角甾醇衍生物(ergosterol derivatives)、peptaibols、cyclonerodiol衍生物、statins、heptelidic acid及衍生物、acoranes、miscelanea等。木霉产生的次级代谢物种类和含量有巨大的菌株间差异^[51,52]。木素木霉 *T. lignorum*、绿色木霉、绿木霉、哈茨木霉、拟康氏木霉、康宁木霉 *T. koningii*、多孢木霉、长枝木霉 *T. longibrachiatum*、里氏木霉等是产生抑菌代谢产物的主要来源^[53]。

木霉产生的抗生物质中,一些吡喃酮类、胶霉毒素等物质对植物病原真菌有广谱拮抗活性。绿色木霉 LTR-2 产生吡喃酮类物质 5,6-二氢-6-戊基-2H-吡喃-2-酮,在浓度为 20 mg/L 条件下,对立枯丝核菌、链格孢 *Alternaria* spp.、大丽花轮枝孢 *Verticillium dahliae*、镰刀孢 *Fusarium* spp.、灰葡萄孢 *Botrytis cinerea*、根腐平脐蠕孢 *Bipolaris sorokinana* 等 11 种植物病原真菌均有不同程度的抑制作用^[54]。胶霉毒素对终极腐霉和立枯丝核菌等植物病原真菌具有强烈的抑制活性^[55]。木霉产生的一些低分子量的非极性化合物对灰葡萄孢有抗真菌活性^[56],如哈茨木霉 T39 分泌的丁烯酸内酯 T39 和 harzianolide 以及由哈茨木霉 T22 分泌的 T22 azaphilone 和 N-杂环化合物(harzianopyridone)均对灰葡萄孢有抑制作用^[57,58]。Liu 等^[59]从哈茨木霉中提取的 6 种蒽醌类化合物对灰葡萄孢有抑制作用。一些单端孢素类物质(如 harzianum A)也有抑制灰葡萄孢生长的活性,harzianum A 合成缺陷的木霉突变体对灰葡萄孢的抗菌活性显著降低^[60]。从 *T. cerinum* 的培养滤液中分离出一种新的羟基内酯(cerinolactone)对灰葡萄孢有抑菌活性^[61]。

另外,还有一些高分子量的极性物质,如 peptaibols 是一类线性非核糖体短肽链(小于 25 个氨基酸残基),主要在木霉与灰葡萄孢接触时发挥抑菌活性,其水脂两亲性使它们能够自我结合成跨越脂质双层膜宽度的低聚离子通道,使寄主细胞质泄漏,导致寄主细胞死亡^[62]。

除了产生于胞外发酵滤液中的抗真菌物质外,木霉产生的一些挥发性物质也有抗真菌活性。其中研究最为广泛的是一种具有“椰子香气”的挥发性物质吡喃酮-6-戊基-2H-吡喃-2-酮(简称 6PP)^[52]。这种吡喃酮类物质首先在绿色木霉的培养滤液中被检测到^[63],后在哈茨木霉^[64]和康宁木霉^[65]中陆续检测到这种物质。研究表明 6PP 对立枯丝核菌、尖孢镰刀菌和灰葡萄孢均具有抑菌活性^[19]。许多研究者还发现 6PP 对植物生长和抗病也有影响,6PP 在低浓度下(50~175 $\mu\text{mol/L}$)对拟南芥生长有促进作用^[66],然而在高浓度(2 mmol/L)下却对植物生长有抑制作用^[67]。6PP 单独施用(2 mmol/L)能够增强拟南芥对灰葡萄孢和芸薹生链格孢 *Alternaria brassicicola* 的抗性,并且拟南芥受到该菌株挥发性物质熏蒸会诱导 SA 累积^[67]。

重寄生作用和抗生作用都是木霉生物防治的重要机制,木霉分泌的细胞壁降解酶和抗生性代谢产物具有协同作用^[68]。

4 木霉与植物的互作

在农业生产过程中,土壤肥力和土壤性质是极其关键的环节,而土壤中微生物的生物量、生物多样性及种群比例、微生物的活力都是影响土壤环境的重要因子^[69]。土壤微生物对土壤生态环境的影响直接

或间接影响到植物生长及抗逆。木霉是土壤微生物中对植物有益的一个类群,能够将土壤中的营养转化为利于植物吸收的成分。如木霉产生的嗜铁素螯合土壤中的铁离子,或者产生酸性物质溶解土壤中的微量元素,使植物从土壤中获得更多的营养^[70,71],木霉还能够产生一些植物生长调节剂,如 IAA 直接促进植物的生长^[72]。

除了在土壤中活动的间接作用外,木霉与植物的互作主要通过定殖植物的根部,直接建立与植物化学信号物质的通讯来实现的^[7]。木霉通常只能在根部定殖,最初定殖阶段会引起植物根部的防御反应^[73],但是在少数植物中(如可可),会允许定殖到整个植物^[74],而同样接种于其他植物却只限于在根部定殖^[74]。一旦植物被木霉定殖并建立起化学通讯,便和植物形成共生关系,在植物根部长期定殖并生长,在此过程中,会对植物的基因表达产生一系列的影响,从而影响植物的生理反应。目前,已经发现几百种植物的基因和蛋白会受到木霉定殖的影响^[32],而且研究者发现,尽管木霉只在根部定殖,植物地上部分的基因表达所受到的影响却远大于根部受到的影响,这说明木霉对于植物的影响是系统性的^[75]。木霉与植物互作关系的建立,对于作物在非生物胁迫及生物胁迫环境下的生长和抗逆都有着积极作用^[76,77]。

4.1 诱导抗性作用

木霉是土壤习居菌,生物防治的木霉制剂通常用于施用于土壤或种子包衣。然而土壤中的木霉能够对植物地上部分发生的病害有一定的防治效果,这便是木霉的诱导抗性作用^[40]。诱导系统抗性(induced systemic resistance, ISR)是由植物根际促生细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)和促生真菌(plant growth-promoting fungi, PGPF)定殖植物根际,诱导植物对病原真菌、细菌、病毒等病原生物产生的广谱系统性抗性。Bigirimana 等^[78]首次证明了木霉具有诱导植物抗性的效果。Harman 等^[7]认为木霉是一种机会性内生真菌,在土壤中能够定殖在植物根部,从而诱发植物的抗病反应^[7]。水杨酸(salicylic acid, SA)信号在木霉定殖植物的过程中发挥很重要的作用。SA 引起的抗病反应能够阻止木霉向植物内部扩展,使其局限在植物的表皮内和细胞间隙^[73]。一些高效木霉菌株一旦在植物根部定殖,则可以长时间对植物造成影响,对于一年生植物可能使植物在整个生长期受益^[79]。木霉在定殖植物过程中会刺激植物产生胞壁沉积物,可不同程度地阻止病原菌入侵^[80]。在植物根部的定殖可增加植物体内与防御有关酶的合成或积累,如苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)、超氧化物歧化酶(SOD)、脂氢过氧化物裂解酶(HPL)、过氧化物酶(POD)等,从而使植物产生防御反应^[81]。

木霉能产生 20 余种微生物相关分子模式(microbes-associated molecular patterns, MAMPs)或损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)。同时,在植物根系也发现了 30 多种受体或相关响应基因^[40]。木霉定殖植物的根系,产生 MAMPs/DAMPs 与植物根系受体或响应基因互作,触发水杨酸、茉莉酸/乙烯等防御反应信号长距离传导至植物叶片,诱导植物叶片表达防御反应基因^[40]。木霉的诱导抗性也与 MAPK 信号途径有关^[82]。诱导的植物系统抗病反应信号通路是以茉莉酸/乙烯(JA/ETH)信号为主的 ISR(induced systemic resistance)信号转导途径,能够刺激植物合成茉莉酸和乙烯作为信号分子,激活下游 *NPR1* 基因,以调控植物抗病相关基因的表达^[83]。

除了直接接触和定殖刺激根系外,木霉产生的挥发性物质也被报道有诱导的功能,产生一些小分子挥发性化合物通过空气传播与植物互作,诱导植物的抗性反应。近些年的研究发现,微生物所产生的挥发性有机物质(volatile organic compounds, VOCs)能够作为微生物与植物互作过程中的信号分子,如诱导植物系统抗性的生防假单胞菌所产生的挥发性物质是拟南芥中与系统诱导抗性相关的转录因子 MYB72 的重要激发因子^[84];如内生真菌 *Muscodor albus* 产生的 VOCs 能够对其他真菌、细菌甚至昆虫产生抑制作用。当大肠杆菌敲除了与 DNA 修复相关酶的基因后,大肠杆菌对 *M. albus* 产生的 VOCs 变得更加敏感,该研究结果认为 VOCs 会诱导 DNA 烷基化,对 DNA 造成损伤^[85]。木霉也能够产生诱导植物产生系统抗性的挥发性物质,如棘孢木霉 *IsmT5* 所产生的 6PP 就是一种诱导植物抗性反应的信号分子,能够降低由灰霉、链格孢菌引起的叶部病害^[66]。棘孢木霉 T-34 和哈茨木霉 T-78 产生的挥发性物质也能够激活拟南芥中 MYB72 表达,引发茉莉酸途径的植物系统性防御反应,提高拟南芥叶片对灰霉的抗性,并且还能促进根部对铁离子的吸收^[86],但挥发性气体的有效成分并不清楚。目前对于这些挥发性物质类的信号分子在植物体内的响应机制还不清楚。

4.2 促进植物生长

大量研究表明,木霉对辣椒、马铃薯、莴苣、黄瓜、白菜、豌豆、花生、长春花和菊花等多种作物有促生效应^[79,87,88]。例如,棘胞木霉菌株 T203 诱导处理的黄瓜体积显著增大^[20],哈茨木霉菌株 T-22 对玉米、大豆、一品红、长春花等植物都有明显的促生作用^[79]。拟康宁木霉菌株 Th003 对番茄种子萌发有促进作用,同时引起番茄产生对镰刀菌侵染的系统抗性^[89]。

木霉对植物的促生机制是多样的,在土壤中能够产生有机酸,从而使土壤中难溶的微量元素溶解,促进植物对这些营养元素的吸收^[7]。哈茨木霉菌株 T22 具有溶解可溶性或微溶性矿物质的能力,通过螯合或降解作用来溶解金属氧化物,如二氧化锰(MnO_2)、锌(Zn)、铁(Fe)以及磷酸钙(Ca_3PO_4)的溶解,促进了植物对矿物质的吸收,从而促进植物的生长^[90]。理论上,木霉等植物共生真菌在定殖植物和共生阶段需要能量,从植物寄主体内获取能量会使植物生长受到抑制^[32];事实上,木霉定殖后对植物有促生效果,植物的能量主要来自光合作用,而有益的植物共生真菌能够帮助植物提高光合效率,达到互利共生^[91]。

绿木霉通过产生生长素相关的机制来促进拟南芥的生长以及侧根的发育^[72]。Bharti 等^[92]发现哈茨木霉对番茄的促生作用是受到 TCA 循环和 HMP 通路影响的。近些年来有研究表明,木霉产生的挥发性有机物质也能够促进植物生长,木霉产生的挥发性物质 6PP 对拟南芥生长有促进作用^[65]。深绿木霉与拟南芥在密闭条件下培养,菌丝不与植物接触,能够显著增加拟南芥的鲜重和叶绿素含量,然而该研究并没有阐明有效的挥发性气体成分^[93]。

5 木霉的商业化制剂及开发应用

木霉生防制剂商品化水平较高,目前为止,在防治植物病害的真菌生防制剂中,木霉生防制剂占 60%以上^[34]。有调查表明,国际上含有木霉的生物防治商业化产品在过去几年中呈指数增长,已经有超过 250 多种木霉商业化制剂在全球范围内登记上市,所有木霉菌剂均登记为生物杀菌剂,并没有菌剂登记为植物生长调节剂^[94]。木霉菌剂在全球各地均有生产,包括 6 个非洲国家、8 个亚洲国家、17 个欧洲国家、16 个美洲国家和两个大洋洲国家^[94]。其中印度是木霉菌剂生产最多的国家,大约占亚洲市场的 90%。我国在木霉生物菌剂的推广应用也较为广泛,如绿色木霉 LTR-2、哈茨木霉 SQR-T-037,木霉菌 D9、哈茨木霉 SH2303 等菌株的生物菌剂都在土壤改良、病害防治中效果显著。我国也有许多商品化木霉制剂,如淮安柴米和、山东碧奥、中农天马、成都特普、云南星耀、山西绿康等公司有登记的木霉制剂,产品多登记为土壤改良剂或生物肥料等,主要用于土壤处理,防治各类土传病害,促进植物生长。

在已经商品化的木霉生物制剂中,最多的种类是哈茨木霉,其次是绿色木霉和康宁木霉。商品化木霉制剂有单一种制剂,也有多个菌株混合制剂,其中,混合木霉菌剂中含有哈茨木霉的制剂比例高达 83%^[94]。在植物病害防治上应用较广泛的木霉菌剂有哈茨木霉 T-22 的商品制剂 RootShield[®](Bioworks, 美国),哈茨木霉 T-39 的商品化制剂 Trichodex[®](Makhteshim Chemical Works Ltd, 以色列)、哈茨木霉和多孢木霉 *T. polysporum* 混合菌剂 Binab TF(Binab Bio Innovation AB, 瑞典)、深绿木霉 *T. atroviride* 菌剂 Sentinel[®](Novozymes, 丹麦),以及哈茨木霉菌剂 Supresivit(Borregaard Bioplant, 丹麦)等。

许多木霉菌株对除草剂、杀菌剂、杀虫剂、酚类物等多种毒素化合物有天然的抗性^[36],因此,木霉常常可以同化学肥料、化学农药以及其他生防微生物制剂等联合使用,达到协同增效的效果。如将哈茨木霉菌剂(0.5~1.0 g/L)与多菌灵(0.25 g/L)混合使用能够使葡萄灰霉病减少 78%,高于单独施用化学农药的防效^[95]。

商业化木霉菌剂有效成分(孢子)含量通常都能达到 10^{10} CFU/g,由于木霉是活体应用且能够在植物体内定殖,只需少量的接种便能取得长久高效的收益。对于种子处理,仅需施用约 500 mg/ha 的高浓度商业制剂,在温室盆栽土壤中只需施用 $10^4 \sim 10^5$ CFU/m³^[32]。

5.1 生防木霉的开发

木霉属包括 200 多个种,但并不是所有种的木霉都有生物防治潜力。目前研究最广泛的具有较大生防潜力的有哈茨木霉、绿色木霉、深绿木霉和多孢木霉等。许多研究表明,木霉属的真菌在种间生防效果

差异非常大,而且同一个种不同的菌株也存在多样性,包括菌丝生长、发育、产孢、拮抗能力、存活能力等方面^[34]。

生防木霉菌株多数是从自然界分离的野生菌株中筛选获得,对于一些有潜力的木霉野生菌株,还可以通过诱变或基因工程改造等方法进行遗传改良,以进一步提高其生防效果。如采用紫外诱变、化学诱变、离子束注入等物理方法进行菌株诱变,或者原生质体转化等分子手段获得生防效果高的突变菌株^[96-100]。我国还通过卫星搭载对木霉进行空间诱变,获得了一些产生胞外酶能力显著提高的突变菌株^[97]。对于木霉菌株的筛选和改良指标有很多,主要包括对高温、低温、盐及干旱胁迫的抗逆性,胞外酶产量、拮抗性、营养利用效率、化学农药抗性等^[101-104]。根际竞争力也是一个筛选木霉菌株的重要指标,哈茨木霉 T-22 便是通过原生质体融合的方式进行了遗传改造获得的根际竞争力强的菌株,对多种植物病害有良好的防效,并且对玉米、辣椒等多种植物有显著的促生效果^[79]。

近年来,CRISPR/Cas9 基因编辑系统发展迅速,已经广泛用于各种生物的基因编辑,Liu 等^[105]以里氏木霉为对象首次成功实现了 CRISPR/Cas9 系统对丝状真菌进行基因编辑,这种高效快速的基因编辑手段有望成为未来木霉工程菌株开发改造的重要方法。

5.2 木霉生物防治的前景与展望

随着全球农业生产的发展,植物病害防治越来越重要。目前,植物病害的防治主要依赖化学防治,通过大量反复喷施化学杀菌剂或杀虫剂来有效的控制植物病原物的生长和传播。但是化学防治带来的环境负面效应不可忽视,并且大量使用化学农药所引起的病原物抗药性是化学防治中所面临的问题。因此,生物防治逐渐受到研究者和相关企业家的重视。目前超过 90%的生物防治菌是细菌,特别是芽胞杆菌。而真菌类生物防治制剂主要来源于木霉,并且不少新的木霉生防菌株正在开发中。

生物防治使用过程中也存在一些问题。首先,生物防治的效果不及化学防治稳定。因为生物防治是应用活的微生物菌剂,所以周围环境对生防效果有很大的影响,包括温湿度、土壤酸碱度、土壤中微生物群落等因素,都是造成活菌剂生防效果不稳定的因素。其次是生物防治制剂的货架期短,有些菌剂要依赖低温保存才能保证其施用时的活菌浓度^[10]。

因此,木霉在植物病害生物防治的应用上还有不少问题需要解决。首先是发掘适应能力强且生防效果稳定的菌株,可以通过从自然环境中广泛分离和筛选,或采用现代分子生物学手段对野生菌株进行遗传改良。同时也要提高木霉菌剂加工水平,延长生物防治菌剂的货架期,生产高效稳定的生物制剂。另外,我国在农业生产过程中对生物防治菌剂的认可度普遍不高,许多农民对过量使用化肥和农药的危害并不了解,因此促进生物防治应用的示范推广和提高农民环保意识也十分重要。在生物防治应用方面,探索生防菌剂适宜的施用环境和方式,以及与化学农药配合使用的作用效果,争取更大效率的使用环保绿色的生物防控措施,减少化学农药,为植物病害的绿色防控和农业生产的安全环保奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Bissett J, Gams W, Jaklitsch W, *et al.* Accepted *Trichoderma* names in the year 2015[J]. *IMA Fungus*, 2015, 6(2): 263-295
- [2] Kopchinskiy A, Komoń M, Kubicek C P, *et al.* Tricho blast: A multilocus database for *Trichoderma* and *Hypocrea* identifications[J]. *Mycological Research*, 2005, 109(6): 658-660.
- [3] Samuels G J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology[J]. *Phytopathology*, 2006, 96(2): 195-206.
- [4] Ghisalberti E. Anti-infective agents produced by the Hyphomycetes genera *Trichoderma* and *Gliocladium*[J]. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Infective Agents*, 2002, 1(4): 343-374.
- [5] 程丽云, 叶明珍, 张绍升. 食用菌木霉病的病原鉴定[J]. *亚热带农业研究*, 2006, 2(1):41-44.
- [6] 杨合同. 木霉生物学[M]. 北京: 中国大地出版社, 2015.
- [7] Harman G E, Howell C R, Viterbo A, *et al.* *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(1): 43-56.
- [8] 杨合同. 木霉分类与鉴定 [M]. 北京: 中国大地出版社, 2009.
- [9] Weindling R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi[J]. *Phytopathology*, 1932, 22(8): 837-845.

- [10] 屈海泳, 刘连妹, 王雪梅. 木霉菌在生物防治上应用的研究进展[J]. 湖北农业科学, 2009(3): 743-746.
- [11] Singh R K, Kumar P, Tiwari N N, *et al.* Role of endochitinase gene and efficacy of *Trichoderma* against *Colletotrichum falcatum* Went. causing red rot disease in sugarcane[J]. Sugar Tech, 2014, 16(2): 180-188.
- [12] de Los Santos-Villalobos S, Guzmán-Ortiz D A, Gómez-Lim M A, *et al.* Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt *et Nirenberg*) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.)[J]. Biological Control, 2013, 64(1): 37-44.
- [13] Marzano M, Gallo A, Altomare C. Improvement of biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* vs. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* through UV-induced tolerance to fusaric acid[J]. Biological Control, 2013, 67(3): 397-408.
- [14] Chowdappa P, Mohan K S P, Jyothi L M, *et al.* Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3[J]. Biological Control, 2013, 65(1): 109-117.
- [15] Fontenelle A D B, Guzzo S D, Lucon C M M, *et al.* Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp.[J]. Crop Protection, 2011, 30(11): 1492-1500.
- [16] Geraldine A M, Lopes F A C, Carvalho D D C, *et al.* Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp.[J]. Biological Control, 2013, 67(3): 308-316.
- [17] Malmierca M G, Barua J, McCormick S P, *et al.* Novel aspinolide production by *Trichoderma arundinaceum* with a potential role in *Botrytis cinerea* antagonistic activity and plant defense priming[J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(4): 1103-1118.
- [18] Contreras-Cornejo H A, Macías-Rodríguez L, Herrera-Estrella A, *et al.* The 4-phosphopantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* plays a role in plant protection against *Botrytis cinerea* through volatile organic compound emission[J]. Plant and Soil, 2014, 379(1-2): 261-274.
- [19] Vos C M, de-Cremer K, Cammue B P, *et al.* The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease[J]. Molecular Plant Pathology, 2014, 16(4): 400-412.
- [20] Yedidia I, Shores M, Kerem Z, *et al.* Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(12): 7343-7353.
- [21] Adb F, Guzzo S D, Cmm L, *et al.* Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp.[J]. Crop Protection, 2011, 30(11): 1492-1500.
- [22] Zhang S, Gan Y, Xu B, *et al.* The parasitic and lethal effects of *Trichoderma longibrachiatum* against *Heterodera avenae*[J]. Biological Control, 2014, 72: 1-8.
- [23] Adams P B. The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases[J]. Annual Review of Phytopathology, 1990, 28(1): 59-72.
- [24] Harman G, Jin X, Stasz T, *et al.* Production of conidial biomass of *Trichoderma harzianum* for biological control[J]. Biological Control, 1991, 1(1): 23-28.
- [25] Abd-El-Motty T, Shatla M. Biological control of white rot disease of onion (*Sclerotium cepivorum*) by *Trichoderma harzianum*[J]. Journal of Phytopathology, 1981, 100(1): 29-35.
- [26] Inbar J, Menendez A, Chet I. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28(6): 757-763.
- [27] Rojo F G, Reynoso M M, Ferez M, *et al.* Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions[J]. Crop Protection, 2007, 26(4): 549-555.
- [28] 徐同, 钟静萍, 李德葆. 木霉对土传病原真菌的拮抗作用[J]. 植物病理学报, 1993, 23(1): 65-69.
- [29] 李海云, 宋晓妍, 张秀省, 等. 拟康宁木霉 SMF2 防治大白菜软腐病机理研究[J]. 园艺学报, 2012, 7: 1373-1379.
- [30] 张婷, 朱洁伟, 武向文, 等. 拮抗木霉菌对玉米弯孢叶斑病的诱导抗性作用[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2011, 4: 38-41, 60.
- [31] 朱廷恒, 邢小平, 孙顺娣. 木霉 T₉₇ 菌株对几种植物病原真菌的拮抗作用机制和温室防治试验[J]. 植物保护学报, 2004, 31(2): 139-144.
- [32] Harman G E. *Trichoderma* not just for biocontrol anymore[J]. Phytoparasitica, 2011, 39(2): 103-108.
- [33] Lopes F A, Steindorff A S, Geraldine A M, *et al.* Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Fungal Biology, 2012, 116(7): 815-824.
- [34] Verma M, Brar S K, Tyagi R D, *et al.* Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control[J]. Biochemical Engineering Journal, 2007, 37(1): 1-20.
- [35] 孙虎, 杨丽荣, 全鑫, 等. 木霉生防机制及应用的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(3): 242-246.
- [36] Benítez T, Rincón A M, Limón M C, *et al.* Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains[J]. International Microbiology, 2004, 7(4): 249-260.

- [37] Chet I, Inbar J. Biological control of fungal pathogens[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1994, 48(1): 37-43.
- [38] 杨萍, 杨谦. 棘孢木霉丝裂原活化蛋白激酶基因 *task1* 的克隆及序列分析[J]. 菌物研究, 2012, 4: 228-230.
- [39] 陈捷. 木霉菌生物学与应用研究—回顾与展望[J]. 菌物学报, 2014, 33(6): 1129-1135.
- [40] 陈捷. 木霉菌诱导植物抗病性研究新进展[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 733-741.
- [41] Gruber S G, Seidl-Seiboth V. Self versus non-self: Fungal cell wall degradation in *Trichoderma*[J]. Microbiology, 2012, 158(1): 26-34.
- [42] 刘士旺. 生防绿色木霉工程菌的构建及其诱导植物抗病性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [43] Kubicek C P, Herrera-Estrella A, Seidl-Seiboth V, *et al.* Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*[J]. Genome Biology, 2011, 12(4): 40.
- [44] 叶小波, 曾千春, 蒋细良. 木霉菌重寄生过程中的酶学研究进展[J]. 中国生物防治, 2009, 25(3): 276-280.
- [45] Mukherjee M, Mukherjee P K, Horwitz B A, *et al.* *Trichoderma*-plant-pathogen interactions: advances in genetics of biological control[J]. Indian Journal of Microbiology, 2012, 52(4): 522-529.
- [46] Seidl V, Song L, Lindquist E, *et al.* Transcriptomic response of the mycoparasitic fungus *Trichoderma atroviride* to the presence of a fungal prey[J]. BMC Genomics, 2009, 10: 567.
- [47] Gupta V, Tewari S, Bajpai A. Ultrastructure of mycoparasitism of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Laetisaria* species on *Botryodiplodia theobromae*[J]. Journal of Phytopathology, 1999, 147(1): 19-24.
- [48] Card S D, Walter M, Jaspers M V, *et al.* Targeted selection of antagonistic microorganisms for control of *Botrytis cinerea* of strawberry in New Zealand[J]. Australasian Plant Pathology, 2009, 38(2): 183-192.
- [49] Atanasova L, Le Crom S, Gruber S, *et al.* Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism[J]. BMC Genomics, 2013, 14: 121.
- [50] Dos-Reis-Almeida F B, Cerqueira F M, Do Nascimento-Silva R, *et al.* Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production[J]. Biotechnology Letters, 2007, 29(8): 1189-1193.
- [51] Reino J L, Guerrero R F, Hernández-Galán R, *et al.* Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*[J]. Phytochemistry Reviews, 2007, 7(1): 89-123.
- [52] Mukherjee P K, Horwitz B A, Kenerley C M. Secondary metabolism in *Trichoderma*--a genomic perspective[J]. Microbiology, 2012, 158(Pt 1): 35-45.
- [53] 李纪顺, 陈凯, 杨合同, 等. 木霉抗生性代谢产物研究进展[J]. 农药, 2010, 10: 713-716.
- [54] 陈凯, 杨合同, 李纪顺, 等. 绿色木霉菌 LTR-2 孢子提取物的抑菌活性及化学成分分析[J]. 微生物学通报, 2007, 34(3): 455-458.
- [55] Anitha R, Murugesan K. Production of gliotoxin on natural substrates by *Trichoderma virens*[J]. Journal of Basic Microbiology, 2005, 45(1): 12-19.
- [56] Mukherjee P K, Horwitz B A, Herrera-Estrella A, *et al.* *Trichoderma* research in the genome era[J]. Annual Review of Phytopathology, 2013(1): 105-129.
- [57] Vinale F, Flematti G, Sivasithamparam K, *et al.* Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*[J]. Journal of Natural Products, 2009, 72(11): 2032-2035.
- [58] Vinale F, Ghisalberti E L, Sivasithamparam K, *et al.* Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens[J]. Letters in Applied Microbiology, 2009, 48(6): 705-711.
- [59] Liu S Y, Lo C T, Shibu M A, *et al.* Study on the anthraquinones separated from the cultivation of *Trichoderma harzianum* strain Th-R16 and their biological activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(16): 7288-7292.
- [60] Malmierca M G, Cardoza R E, Alexander N J, *et al.* Involvement of *Trichoderma* trichothecenes in the biocontrol activity and induction of plant defense-related genes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(14): 4856-4868.
- [61] Vinale F, Girona I A, Nigro M, *et al.* Cerinolactone, a hydroxy-lactone derivative from *Trichoderma cerinum*[J]. Journal of Natural Products, 2012, 75(1): 103-106.
- [62] Chugh J K, Wallace B A. Peptaibols: Models for ion channels[J]. Biochemical Society Transactions, 2001, 29(4): 565-570.
- [63] Collins R P, Halim A F. Characterization of the Major Aroma Constituent of the Fungus *Trichoderma viride* (Pers.)[J]. Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 1972, 20(2): 437-438.
- [64] Claydon N, Allan M, Hanson J R, *et al.* Antifungal alkyl pyrones of *Trichoderma harzianum*[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1987, 88(4): 503-513.
- [65] Dunlop R W, Simon A, Sivasithamparam K, *et al.* An antibiotic from *Trichoderma koningii* active against soilborne plant pathogens[J]. Journal of Natural

- Products, 1989, 52(1): 67-74.
- [66] Garnica V A, Barrera O S, Muñoz P E, *et al.* The volatile 6-pentyl-2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ethylene insensitive 2 functioning[J]. *New Phytologist*, 2016, 209(4): 1496-1512.
- [67] Kottb M, Gigolashvili T, Großkinsky D K, *et al.* *Trichoderma* volatiles effecting *Arabidopsis*: from inhibition to protection against phytopathogenic fungi[J]. *Frontiers in microbiology*, 2015, 6: 995.
- [68] Schirmböck M, Lorito M, Wang Y L, *et al.* Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(12): 4364-4370.
- [69] Lehman R M, Cambardella C A, Stott D E, *et al.* Understanding and enhancing soil biological health: the solution for reversing soil degradation [J]. *Sustainability*, 2015, 7(1): 988-1027.
- [70] Lorito M, Woo S L, Harman G E, *et al.* Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2010, 48: 395-417.
- [71] Cunningham J E, Kuiack C. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaii*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(5): 1451-1458.
- [72] 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 Physiology*, 2009, 149(3): 1579-1592.
- [73] Alonso-Ramirez A, Poveda J, Martin I, *et al.* Salicylic acid prevents *Trichoderma harzianum* from entering the vascular system of roots[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 15(8): 823-831.
- [74] Bae H, Roberts D P, Lim H S, *et al.* Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2011, 24(3): 336-351.
- [75] Shores M, Harman G E, Mastouri F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2010, 48: 21-43.
- [76] Chepsergon J, Mwanburi L, Kassim M K. Mechanism of drought tolerance in plants using *Trichoderma* spp.[J]. *International Journal of Science and Research*, 2014, 3: 1592-1595.
- [77] Singh M, Sharma O. *Trichoderma*-A savior microbe in the era of climate change[J]. *International Journal of Advanced Biotechnology Research*, 2012, 2(4): 784-786.
- [78] Bigirimana J, De Meyer G, Poppe J, *et al.* Induction of systemic resistance on bean (*Phaseolus vulgaris*) by *Trichoderma harzianum*[J]. *Mededelingen Van De Faculteit Landbouwkundige En Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent*, 1997, 62: 1001-1007.
- [79] Harman G E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22[J]. *Plant Disease*, 2000, 84(4): 377-393.
- [80] 赵蕾, 滕安娜. 木霉对植物的促生及诱导抗性研究进展[J]. *植物保护*, 2010, 36(1): 43-46.
- [81] Shores M, Harman G E. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach[J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(4): 2147-2163.
- [82] Viterbo A, Harel M, Horwitz B A, *et al.* *Trichoderma* mitogen-activated protein kinase signaling is involved in induction of plant systemic resistance[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(10): 6241-6246.
- [83] Hanson L, Howell C. Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma viren*[J]. *Phytopathology*, 2004, 94(2): 171-176.
- [84] Zamioudis C, Korteland J, van Pelt J A, *et al.* Rhizobacterial volatiles and photosynthesis-related signals coordinate MYB72 expression in *Arabidopsis* roots during onset of induced systemic resistance and iron-deficiency responses[J]. *The Plant Journal*, 2015, 84(2): 309-322.
- [85] Campos M, Jacobs-Wagner C, Strobel S A. Mycofumigation by the volatile organic compound-producing fungus *Muscador albus* induces bacterial cell death through DNA damage[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(3): 1147-1156.
- [86] Martínez-Medina A, Van Wees S, Pieterse C M. Airborne signals by *Trichoderma* fungi stimulate iron uptake responses in roots resulting in priming of jasmonic acid-dependent defences in shoots of *Arabidopsis thaliana* and *Solanum lycopersicum*[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2017, 40(11): 2691-2705.
- [87] 戚玮真. 生防木霉菌对植物的解盐促生作用及其机制的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2012.
- [88] 胡琼, 邵菲菲. 木霉对植物促生作用的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(10): 5077-5079.

- [89] Moreno C A, Castillo F, Gonzalez A, *et al.* Biological and molecular characterization of the response of tomato plants treated with *Trichoderma koningiopsis*[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2009, 74(2): 111-120.
- [90] Altomare C, Norvell W, Björkman T, *et al.* Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(7): 2926-2933.
- [91] 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 Physiology*, 2009, 151(2): 792-808.
- [92] Bharti M K, Sharma A K, Pandey A K, *et al.* Physiological and biochemical basis of growth suppressive and growth promotory effect of *Trichoderma* strains on tomato plants[J]. *National Academy Science Letters*, 2012, 35(5): 355-359.
- [93] Lee S, Hung R, Yap M, *et al.* Age matters: the effects of volatile organic compounds emitted by *Trichoderma atroviride* on plant growth[J]. *Archives of Microbiology*, 2015, 197(5): 723-727.
- [94] Woo S L, Ruocco M, Vinale F, *et al.* *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture[J]. *The Open Mycology Journal*, 2014, 8(1): 71-126.
- [95] Elad Y. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*[J]. *Crop Protection*, 1994, 13(1): 35-38.
- [96] 李爱华, 李耀忠, 宋莉莉. 紫外线诱变康宁木霉提高酶活力的研究[J]. *宁夏大学学报(自然科学版)*, 2003, 24(4): 389-391.
- [97] 邝哲师, 潘木水, 李国立. 木霉的空间诱变效应[J]. *核农学报*, 2005, 19(3): 195-197.
- [98] 虞龙, 张宁. 离子注入微生物诱变育种的研究与应用进展[J]. *微生物学杂志*, 2005, 25(2): 80-83.
- [99] 林英, 吕淑霞, 张蓓蓓, 等. 绿色木霉原生质体诱变筛选纤维素酶高产菌株[J]. *生物技术*, 2006, 16(2): 50-51.
- [100] 杨合同, 唐文华, 李纪顺, 等. 绿色木霉 LTR-2 菌株的紫外线诱变改良[J]. *中国生物防治学报*, 2004, 20(3): 182-186.
- [101] 田连生. 抗药性木霉菌株的选育及其与多菌灵的协同作用[J]. *核农学报*, 2008, 22(1): 32-35.
- [102] 孙君社, 李雪, 董秀芹. 纤维素酶高产菌株的选育及产酶条件的研究[J]. *北京林业大学学报*, 2002, 24(2): 83-85.
- [103] 王景林, 尹清强, 吴东林, 等. 高活力纤维素酶菌株康氏木霉 B—7 的选育与产酶条件的研究[J]. *生物技术*, 1996(6): 14-17.
- [104] 王强强, 窦恺, 陈捷, 等. 拮抗性木霉菌株抗逆性筛选评价标准与方法[J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(1): 99-111.
- [105] Liu R, Chen L, Jiang Y, *et al.* Efficient genome editing in filamentous fungus *Trichoderma reesei* using the CRISPR/Cas9 system[J]. *Cell Discovery*, 2015, 1: 15007.