

木霉生防作用机制的研究进展

宋晓妍, 孙彩云, 陈秀兰, 张玉忠
(山东大学微生物技术国家重点实验室, 济南, 250100)

摘要: 木霉是一种重要的生防因子, 已成功地用于多种植物真菌病害的生物防治。综述了木霉生防作用机制的国内外研究进展, 并对今后的研究进行展望。
关键词: 木霉; 生物防治; 作用机制
中图分类号: S482 3+9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0864(2006) 06-0020-06

Research Advances on Mechanism of *Trichoderma* in Biological Control

SONG Xiao-yan, SUN Cai-yun, CHEN Xi-lan, ZHANG Yu-zhong
(State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract *Trichoderma* spp. are important fungus as biological control agents and have been commercially applied against many fungal pathogens. The mechanisms employed by *Trichoderma* against plant phytopathogens are reviewed, and the research advancement in future is proposed in this paper.
Key words *Trichoderma*; biological control; mechanism of action

木霉菌是一种广泛存在于土壤、植物根际和叶面的腐生型真菌, 对多种植物病原真菌具有拮抗作用。目前国内外已经有 50 多种木霉商品化制剂^[1]。最常用的木霉生防因子有 *T. harzianum*, *T. virens* 和 *T. viride*, 特别是 *T. harzianum* 的研究最为深入。据不完全统计, 木霉至少对 18 个属 29 种病原真菌在体外或体内有拮抗作用^[2]。目前木霉已广泛用于多种植物真菌病害的防治, 特别是对立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*)、镰刀菌 (*Fusarium* spp.)、齐整小核菌 (*Sclerotium rolfsii*)、疫霉菌 (*Phytophthora* spp.)、腐霉菌 (*Pythium* spp.)、链格孢菌 (*Alternaria alternata*) 等引起的幼苗立枯病、枯萎病、猝倒病、白绢病、疫霉病等土传病害具有较好的防治效果^[3]。近几年国内学者将木霉用于杜仲、人参、三七等中药材病害以及草坪病害的生物防治也获得了较好的效果^[4, 5]。木霉菌对植物病害的生防作用机制包括竞争作用、重寄生作用、抗

生作用和诱导植物抗性作用等。不同作用方式之间往往存在着协同作用。

1 竞争作用

木霉菌属于腐生型真菌, 适应性强、生长繁殖快, 能够迅速利用营养和占据空间。研究表明: 无论采用土壤处理还是种子处理, 木霉都能够很容易地沿着被处理植物的根系生长^[6]。木霉还能分泌大量的胞外降解酶类降解土壤中的纤维素、葡聚糖、几丁质等以得到更多的能量来满足自身生长的需要。*T. harzianum* CECT2413 在营养十分贫瘠的土壤中可以依靠胞外水解酶生存^[7]。在离子饥饿状态下, 木霉能分泌高效率的铁载体来螯和环境中的离子, 竞争土壤中有限的营养成分从而抑制病原微生物的生长^[8] (Chet and Inbar, 1994)。与其他生物相比, 木霉具有更强的吸收和利用土壤营养的

收稿日期: 2006-10-20; 修回日期: 2006-10-28。
作者简介: 宋晓妍 (1970—), 女, 博士生; 主要从事农业微生物学研究。E-mail: xysong1209@sohu.com
通讯作者: 张玉忠, 教授, 博士生导师。Tel: 86-531-8364326 Fax: 86-531-8564326 E-mail: zhangyz@sdu.edu.cn
基金项目: 教育部新世纪优秀人才资助计划 (编号: NCET-04-0637), 山东省优秀中青年科学家奖励基金 (编号: 2004BS06001), 山东省科技发展计划 (编号: 030304) 资助。
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

能力。木霉强的竞争力还表现在其能够克服土壤环境中的化学农药、其他生物的有毒代谢产物等有毒化合物的抑制作用,木霉的这种抵抗能力可能与其 ABC 转座体的存在有关^[6] (Haman et al, 2004)。较强的环境适应能力和营养的利用能力,使木霉具有很强的生境竞争能力而在抑制病原真菌过程中发挥着重要作用。

2 重寄生作用

木霉的重寄生作用包含了对病原菌的侵染、识别、接触、缠绕、穿透和寄生等一系列过程^[9]。研究表明:寄主真菌细胞表面的特定外源凝集素 (lectin) 在识别中起一定作用,并决定木霉菌与寄主真菌之间的专化关系^[10, 11]。Elad 等研究表明:木霉菌和寄主真菌相互识别后,木霉菌丝沿寄主菌丝平行生长和螺旋状缠绕生长,并产生附着胞状分枝吸附在寄主菌丝上,通过分泌胞外酶溶解细胞壁,穿透寄主菌丝,吸取营养^[10]。木霉在重寄生过程中产生多种细胞壁降解酶 (cell wall degrading enzymes, CWDEs), 这些细胞壁降解酶包括几丁质酶 (chitinases)、纤维素酶 (cellulases)、木聚糖酶 (xylanases)、葡聚糖酶 (glucanases) 和蛋白酶 (proteinases) 等。其中以几丁质酶、葡聚糖酶和蛋白酶的作用为主,也研究的最为深入。

几丁质酶在木霉生物防治过程中发挥着非常重要的作用。木霉产生的几丁质酶可以分为内切几丁质酶 (endochitinases), 外切几丁质酶 (exochitinases) 和 β -1, 4-N-乙酰葡萄糖胺酶 (β -1, 4-N-acetylglucosaminidases) 3 类。42 kDa 内切几丁质酶是经常被分离到的几丁质酶,被认为是在重寄生过程中起关键作用的酶。*T. harzianum* CECT 2413 产生的 3 种内切几丁质酶 (33, 37 和 42 kDa) 在离体条件下能水解多种植物病原真菌的细胞壁。CHIT42 能够水解 *B. cinerea* 的细胞壁,并抑制多种真菌的孢子的萌发和芽管的伸长。Woo 等发现关闭其 *ech42* 基因的木霉菌株对 *B. cinerea* 的孢子萌发和菌丝生长的抑制能力比含有双拷贝 *ech42* 基因的菌株明显降低,加入纯化的 42 kDa 内切几丁质酶,可将其抑制能力恢复到正常水平^[12]。在 CHIT33 和 CHIT37 存在的条件下,CHIT42 的活性显著提高^[13]。*chit42* 在木霉和植物病原真菌接触前表达^[14],而 *chit33* 的表达则需要木霉和植物

病原菌接触^[15]。这 3 种酶的基因已经被克隆。其他的编码 *chit42* 几丁质酶的基因 *ech42*, *chit42* 和 *ThEn42* 也陆续被克隆。*chit42* 和 *chit33* 缺乏几丁质结合结构域,将 *T. reesei* 的纤维二糖酶的纤维素结合结构域与 *chit42* 和 *chit33* 连接形成的嵌合酶可以明显提高菌株的生防作用^[16]。木霉几丁质酶在非诱导条件下表达量很少,而在诱导条件下能够大量产生。用纯化的几丁质或植物病原真菌 (*Rhizoctonia solani* 和 *Botrytis cinerea*) 的细胞壁作唯一碳源,可在离体条件下诱导木霉产生几丁质酶。而用脱乙酰几丁质 (chitosan)、纤维素或非纯化的几丁质则不能诱导木霉产生几丁质酶^[17]。73 kDa 的 *nag1* 是主要的 β -1, 4-N-乙酰葡萄糖胺酶,病原真菌的细胞壁和几丁质诱导 *nag1* 的表达^[18]。Lorito 等从 *T. harzianum* P1 中提纯的内切几丁质酶和几丁二糖酶用于测定对 9 种病原菌的抗菌活性,结果发现 *T. harzianum* 几丁质酶的抗菌活性高于其他来源 (如植物和细菌) 的几丁质酶,且抗菌谱广^[19]。

内切和外切几丁质酶能够水解植物病原真菌的细胞壁,从而抑制病原菌孢子萌发并引起菌丝以及孢子的消解,而且这两类酶之间具有协同作用^[20],同时也具有与杀菌剂及生防细菌协同作用的功效^[21, 22]。木霉几丁质酶对植物病原真菌作用的广谱性,对老熟组织的强降解能力和与其他作用因子的协同增效作用使其在植物真菌病害的防治中具有重要作用。

葡聚糖酶,主要是 β -1, 3-葡聚糖酶和 β -1, 6-葡聚糖酶,是参与木霉重寄生过程的另一类关键的酶。 β -1, 3-葡聚糖酶 (包括外切酶和内切酶) 直接参与哈茨木霉菌与其寄主真菌之间的重寄生作用^[23~25]。Vazquez 等采用昆布多糖诱导 *T. harzianum* MI203040 可以产生 7 种胞外 β -1, 3-葡聚糖酶^[26]。其中 2 种编码 β -1, 3-葡聚糖酶的基因已经被克隆。这些酶在重寄生过程中可能发挥着不同的作用。Lora 等克隆了 43 kDa β -1, 6-内切葡聚糖酶的基因,该酶与其他水解酶协同作用可以抑制多种病原菌的生长^[27]。最近, Djnovic S 等用缺失突变和过量表达 β -1, 6-glucanase *Tv-bgn3* 基因的 *T. virens* 的木霉菌株和野生型菌株比较研究了 *Tv-bgn3* 基因的功能,发现该基因编码的 β -1, 6-葡聚糖酶与 *T. virens* 的生防功能相关,缺失突变株的生防作用显著降低,而过量表达该酶的菌株能够显著

提高其生防能力^[28]。几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖酶对病原真菌细胞壁具有强烈的水解作用, 它们不仅能降解病原真菌成熟菌丝的顶端, 同时也能降解具有几丁质-葡聚糖复合结构的老熟细胞壁以及菌核^[29]。Sanz等则发现 α -1, 3-glucanase与木霉的重寄生作用相关, 对葡萄灰霉病菌具有抑制作用^[30]。

木霉的胞外蛋白酶在植物病原真菌细胞壁的降解中也发挥着重要的作用。蛋白酶是完全水解真菌细胞壁所必需的。从*T. harzianum* M1206040中分离到的重寄生过程中产生的碱性蛋白酶prb1, 其基因的表达受到葡萄糖的抑制, 立枯丝核菌的细胞壁或几丁质则可以诱导其表达, 多种环境因子影响其转录激活^[31, 32]。当木霉生长在以立枯丝核菌细胞壁、灭菌的菌丝或几丁质为唯一碳源的培养基上时, 该酶的基因是活跃的。过量表达prb1可以提高木霉的生防效果^[33]。*T. harzianum* CECT2413产生的胰酶相似蛋白酶PRA1对真菌细胞壁具有很高的亲和能力, 能够抑制线虫卵的孵化, 并且与木霉产生的其他具有拮抗作用的蛋白具有协同作用^[34]。最近的研究表明蛋白酶PapA在木霉的重寄生和与植物的共生作用中发挥着重要作用^[35]。耐冷木霉也成为筛选具有生防作用低温蛋白酶的重要来源^[36]。

3 拮抗作用

拮抗作用也是木霉发挥其生物防治作用的重要机制。许多木霉能够产生抗菌物质阻止其拮抗微生物的定殖, 如harzianic acid, tricholin, peptaibols, 6-penthy α -pyrone, massolactone, viridin, gliovirin, gliosprensin, heptelidic acid等抑制植物病原菌的生长而发挥其生防作用^[37]。抗生素的产生往往和其生防能力相关, 抗生素的效果和整个生防因子的作用相似。能够高效抑制禾顶囊壳禾谷变种(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*小麦全蚀病菌)的*T. harzianum*分离株产生吡喃酮类抗生素, 菌株作用效果与吡喃酮的产生明显相关^[38~40]。但是, 也有证据表明抗生素过量表达的菌株并不能增加其对植物病害的控制。如gliovirin过量表达的*T. virens*和其野生型对植物病害的控制能力相同, 但是gliovirin缺失的突变株则失去其保护棉花幼苗被终级腐霉侵染的能力。一般来说, 具有最佳

生防效果的*T. virens*菌株能够产生gliovirin^[41]。

抗生素和水解酶的联合使用比单独使用抗生素具有更强的拮抗作用^[42, 43]。如*T. harzianum*的内切几丁质酶和gliotoxin水解酶和peptaibols协同作用抑制灰葡萄孢孢子的萌发^[41]。高水平表达胞外酶和 α -吡喃酮(α -pyrone)的*T. harzianum* 2413突变体无论是在阻遏(只有吡喃酮产生)还是在去阻遏(酶和酮都产生)的条件下在离体对峙实验中都比野生型能更好地抑制立枯丝核菌、灰葡萄孢^[44]。研究发现: 拮抗作用和水解酶的协同作用的发生, 首先表现为胞外水解酶对病原真菌细胞壁的降解, 当酶在抗生素之后加入其协同作用就很低^[41]。

Peptaibols是一类由非核糖体肽合成酶(Non-Ribosomal Peptide Synthetases, NRPSs)合成的富含 α -氨基异丁酸(Aib)、具 α -螺旋结构, 对细菌、真菌等有拮抗作用的一类特殊的肽类抗生素的总称, 主要来源于土壤真菌。很多木霉菌株都能够产生peptaibols, 目前发现的309种peptaibols中186种是由木霉产生的。研究发现: peptaibols具有广谱的抑菌活性, 对多种植物病原菌具有抑制作用^[45]。Peptaibols还可以与细胞壁降解酶协同作用抑制病原真菌的生长^[46, 47]。外源应用peptaibols能够诱发烟草的防御反应, 降低其对烟草花叶病毒的敏感性^[48]。

虽然抗生素在木霉的生物防治中同样发挥着重要作用, 但是对木霉产生的抗生素性质的深入研究和其在植物病害防治中的功能的研究要远远落后于对细菌抗生素的研究^[49]。

4 诱导植物抗性、激发植物防御机制

木霉菌株能和植物建立共生关系, 通过和菌根真菌相似的机制在植物根系定殖并且产生刺激植物生长和诱导植物防御反应的化合物。最近几年木霉诱导植物产生抗性和激发防御机制的研究有了很大的进展^[6]。木霉菌株穿透植物的表皮在植物根系定殖, 随后产生和释放诱发植物局部和系统防御反应的化合物。而植物合成和积聚植物抗毒素、类黄酮、萜类化合物、酚的衍生物、糖苷配基和其他抗菌化合物来抵御真菌的入侵^[6, 50]。因此木霉不仅自身产生抗菌物质抑制病原真菌的生长, 而且诱导植物产生自身的抗菌物质抵抗病原菌的入

侵。木霉通常比大多数真菌对这些抗菌物质具有更强的抗性。这种抗性与木霉菌株中的 ABC 转运体的存在有关,是根系定殖所必不可少的。Avni 等发现 *T. harzianum* 能够诱导烟草 1-氨基环丙烷羧酸 (ACC) 合成酶和 ACC 氧化酶活性, ACC 合成酶和 ACC 氧化酶在抗病信号分子乙烯的生物合成中起重要作用^[51]; Yedidia 等观察到 *T. harzianum* T203 菌株诱导黄瓜系统获得性抗性的产生^[50]。Elad 等进一步证实 *T. harzianum* T203 菌株的诱导抗性是其防治黄瓜病害的重要机制之一^[52]。Viterbo 等的研究发现 *T. virens* 能够刺激黄瓜产生分裂素蛋白激酶,参与植物的信号转导途径从而诱导黄瓜系统抗性的产生,抑制由丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *Lacrymans*) 引起的细菌性角斑病^[53]。黄艳青等的研究发现木霉菌能明显诱导甜瓜对枯萎病菌的抗性反应,对甜瓜枯萎病有很好的防治效果^[54]。目前一般认为,诱导抗性的诱导子包括具有酶学活性和其他生物功能的蛋白质,Avr 蛋白和木霉产生的酶特异性酶解产生的寡糖和低分子量复合物。Djnović S 等最近从木霉中分离了一种小分子蛋白 Sm1,能够诱导植物产生系统或局部的抗性,并且对植物和微生物都没有毒性作用。与植物接触 SM1 的表达和分泌水平要明显高于没有与植物接触的菌株^[55]。

5 前景与展望

木霉作为一种高效的生防因子越来越受到人们的关注,其生防作用机制的研究也逐步深入。木霉对植物病原菌的生物防治机制是多样而复杂的,常常是多种机制共同作用的结果,不同的菌株的生防机制的侧重点不同,其生防作用效果与菌株类型、病原真菌的类型、作物类型和环境条件密切相关。深入研究木霉的生防作用机制有助于筛选和构建高效的木霉菌株,研制高效的木霉制剂,以有效的控制植物真菌病害的发生。但是目前还缺乏完善的方法来对其作用方式进行全面的研究,如果能建立生防作用机制的新的研究方法将有助于对其生防作用机制做进一步研究。

基因组学和基因工程技术的发展为木霉生防作用机制的研究提供了强有力的技术支持。通过基因工程技术敲除或过量表达某些功能基因可以深入的研究木霉的生防作用机制。通过基因工程

手段将 *gfp* 等标记基因转入生防木霉菌株还可以研究木霉在土壤中与植物和病原菌体内原位的相互作用^[56, 57]。

蛋白质组学以蛋白质组为研究对象,从整体上对生物体进行研究,已成为后基因组研究的热点,其核心技术是 2D-电泳和质谱技术。蛋白质组学及蛋白质组技术的发展为木霉生防作用机制的研究提供了新的研究思路和技术手段。最近 Marra 等人成功地用蛋白质组技术研究了木霉-大豆-植物病原菌 (*Botrytis cinerea* 和 *Rhizoctonia solani*) 之间的相互作用,分离和鉴定了大量的相互作用后表达的蛋白质^[58]。

木霉菌生防作用机制的研究丰富了植物病害生物防治的知识,为木霉在植物病害生物防治中的成功应用提供了有力的理论支持。随着研究技术的进步和研究工作的深入进行,木霉的生防作用机制会逐步得到阐明,木霉在植物病害的生物防治中必将发挥更为重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Woo SL, Scala F, Ruocco M, Lorito M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., Phytopathogenic fungi and Plants [J]. *Phytopathol*, 2006, 96: 181~185
- [2] 徐同, 钟静萍. 木霉对土传病原真菌的拮抗作用 [J]. *植物病理学报*, 1993, 23 (1): 63~67
- [3] 郭润芳, 刘晓光, 高克祥. 拮抗木霉菌在生物防治中的应用与研究进展 [J]. *中国生物防治*, 2002, 18 (4): 180~184
- [4] Ding W. L., Cheng H. Z. and Chen J. Presearch on preventing the medicinal plant diseases with *Trichoderma harzianum* preparation [J]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2003, 28: 24~27
- [5] 蒋家珍, 赵美琦, 薄怀霞, 肖杰, 李学锋. 生物农药在草坪病害防治中的应用研究 [J]. *草业科学*, 2004, 21(11): 93~95
- [6] Haman G. E., Howell C. R., Viterbo A., Chet I. and Lorito M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2: 43~56
- [7]gado-Jarana J., Moreno-Mateos M. A. and Benitez T. Glucose uptake in *Trichoderma harzianum*: role of gtt1 [J]. *Eukaryot Cell*, 2003, 2: 708~717
- [8] Chet I. and Inbar J. Biological control of fungal pathogens [J]. *Appl Biochem. Biotechnol*, 1994, 48: 37~43
- [9] Elad Y. Biocontrol of foliar pathogens: mechanisms and application [J]. *Commun. Agric. Appl Biol Sci*, 2003, 68: 17~24
- [10] Elad Y., Barak R. and Chet I. Possible role of lectins in mycoparasitism [J]. *J Bacteriol*, 1983, 154: 1431~1435
- [11] Neethling D., Nevakainen H. Mycoparasitic species of *Trichoderma* produce lectins [J]. *Can J Microbiol*, 1996, 42: 141~146
- [12] Woo S L., Donzelli B. and Scala F. Disruption of *ech42*, endochitinase encoding gene affects biocontrol activity in *Trichoderma harzianum* strain P1 [J]. *Molecular and Plant-Microbe Interaction*, 1998, 12: 419~429

- [13] de la C. J., Hidalgo-Galleja A., Lora J. M., Benitez T., Pinto-Torres J. A. and Llobell A. Isolation and characterization of three chitinases from *Trichoderma harzianum* [J]. *Eur J. Biochem.*, 1992, 206: 859~867
- [14] Kulhig C., Mach R. L., Lorito M. and Kubicek C. P. Enzyme diffusion from *Trichoderma atroviride* (= *T. harzianum* P1) to *Rhizoctonia solani* is a prerequisite for triggering of *Trichoderma ech42* gene expression before mycoparasitic contact [J]. *Appl Environ. Microbiol.*, 2000, 66: 2232~2234
- [15] de las Mercedes D. M., Limon M. C., Mejias R., Mach R. L., Benitez T., Pinto-Torres J. A. and Kubicek C. P. Regulation of chitinase 33 (chit33) gene expression in *Trichoderma harzianum* [J]. *Curr Genet.*, 2001, 38: 335~342
- [16] Limon M. C., Chacon M. R., Mejias R., Gado-Jarana J., Rincon A. M., Codon A. C. and Benitez T. Increased antifungal and chitinase specific activities of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 by addition of a cellulose binding domain [J]. *Appl Microbiol. Biotechnol.*, 2004, 64: 675~685
- [17] Lorito M. Chitinolytic enzymes and their gene [M]. In: Harman, G. E., Kubicek C. P. eds. *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 2. Enzymes, Biology, Control and Commercial Applications. London, UK: Taylor & Francis Ltd., 1998, 73~99
- [18] Peterbauer C. K., Lorito M., Hayes C. K., Haman G. E., Kubicek C. P. Molecular cloning and expression of the nag1 gene (N-acetyl-beta-D-glucosaminidase-encoding gene) from *Trichoderma harzianum* P1 [J]. *Curr Genet.*, 1996, 30: 325~331
- [19] Lorito M., Haman G. E., Hayes C. K., Broadway R. M., A. Tronsno, S. L. Woo and A. Di Pietro. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase [J]. *Phytopathol.* 1993, 83: 302~307
- [20] Bolat J. P., Norelli J. L., Haman G. E., Brown S. K. and Aldwinckle H. S. Synergistic activity of endochitinase and exochitinase from *Trichoderma atroviride* (*T. harzianum*) against the pathogenic fungus (*Venturia inaequalis*) in transgenic apple plants [J]. *Transgenic Res.*, 2001, 10: 533~543
- [21] Fogliano V., Ballio A., Gallo M., Woo S., Scala F. and Lorito M. *Pseudomonas* lipopeptides and fungal cell wall-degrading enzymes act synergistically in biological control [J]. *Mol Plant Microbe Interact.*, 2002, 15: 323~333
- [22] Woo S., Fogliano V., Scala F. and Lorito M. Synergism between fungal enzymes and bacterial antibiotics may enhance biocontrol [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002, 81: 353~356
- [23] de la Cruz J., Pinto-Torres J. A., Benitez T., Llobell A. and Romero L. C. A novel endo-beta-1, 3-glucanase, BGN13.1, involved in the mycoparasitism of *Trichoderma harzianum* [J]. *J. Bacteriol.*, 1995, 177: 6937~6945
- [24] El-Katatny, M. H., Gudeli M., Robra K. H., Elhaghy, M. A. and Gubitz G. M. Characterization of a chitinase and an endo-beta-1, 3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii* [J]. *Appl Microbiol. Biotechnol.*, 2001, 56: 137~143
- [25] Thrane C., Tronsno A. and Jensen D. E. Endo-1, 3-glucanase and cellulase from *Trichoderma harzianum*: Purification and Partial characterization, induction of biological activity against plant pathogenic *Pythium* spp [J]. *Europe J Plant Pathology*, 1997, 103: 3331~3344
- [26] Vazquez-Garciluenas S., Leal Morales C. A. and Herrera-Estrella A. Analysis of the beta-1, 3-Glucanolytic System of the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum* [J]. *Appl Environ. Microbiol.*, 1998, 64: 1442~1446
- [27] Lora J. M., De la C. J., Llobell A., Benitez T. and Pinto-Torres J. A. Molecular characterization and heterologous expression of an endo-beta-1, 6-glucanase gene from the mycoparasitic fungus *Trichoderma harzianum* [J]. *Mol Gen. Genet.*, 1995, 247: 639~645
- [28] Djonovic S., Pozo M. J. and Kennerly, C. M. Tcbg3, a [beta]-1, 6-Glucanase from the Biocontrol Fungus *Trichoderma viridis* is Involved in Mycoparasitism and Control of *Pythium ultimum* [J]. *Appl Environ. Microbiol.*, 2006, 60: 4364~4370
- [29] El-Katatny, M. H., Gudeli M., Robra K. H., Elhaghy, M. A. and Gubitz G. M. Characterization of a chitinase and an endo-beta-1, 3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii* [J]. *Appl Microbiol. Biotechnol.*, 2001, 56: 137~143
- [30] Sanz L., Montem M., Redonda J., Llobell A. and Monte E. Expression of an alpha-1, 3-glucanase during mycoparasitic interaction of *Trichoderma asperellum* [J]. *FEBS J.*, 2005, 272: 493~499
- [31] Geramita R. A., Goldman G. H., Jacobs D., Ardiles W., Vila S. B., Van M. M. and Herrera-Estrella A. Molecular characterization of the proteinase-encoding gene prb1, related to mycoparasitism by *Trichoderma harzianum* [J]. *Mol Microbiol.*, 1993, 8: 603~613
- [32] Omedo-Monfil V., Mendoza-Mendoza A., Gomez I., Cortes C. and Herrera-Estrella A. Multiple environmental signals determine the transcriptional activation of the mycoparasitism related gene prb1 in *Trichoderma atroviride* [J]. *Mol Genet Genomics*, 2002, 267: 703~712
- [33] Flores A., Chet I. and Herrera-Estrella A. Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene prb1 [J]. *Curr Genet.*, 1997, 31: 30~37
- [34] Suarez B., Rey M., Castilla P., Monte E. and Llobell A. Isolation and characterization of PRA1, a trypsin-like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematocidal activity [J]. *Appl Microbiol. Biotechnol.*, 2004, 65: 46~55
- [35] Viterbo A., Harel M. and Chet I. Isolation of two aspartyl proteases from *Trichoderma asperellum* expressed during colonization of cucumber roots [J]. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2004, 238: 151~158
- [36] Antal Z., Manczinger L., Szakacs G., Tenglerdy R. P. and Ferenczy L. Colony growth *in vitro* antagonism and secretion of extracellular enzymes in co-h-tolerant strains of *Trichoderma* species [J]. *Mycological research.*, 2000, 104: 545~549
- [37] Vey A., Hoagland, R. E. and Butt T. M. Toxic metabolites of fungal biocontrol agents [M]. In: Butt T. M., Jackson G. Magan N. (eds) *Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential*. Hoagland, R. & Butt, 2001, 311~345

- [38] Lin A., Lee T.M. and Rem J.C. Tricholin, a new antifungal agent from *Trichoderma viride* and its action in biological control of *Rhizoctonia solani* [J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 1994, 47: 799~805
- [39] Serrano-Carreón L., Flores C., Rodríguez B. and Galindo E. *Rhizoctonia solani*, an elicitor of 6-pentyl- α -pyrone production by *Trichoderma harzianum* in a two liquid phases extractive fermentation system [J]. *Biotechnol Lett*, 2004, 26: 1403~1406
- [40] Vinale F., Marra R., Scala F., Ghisalberti E.L., Lorito M. and Sivasithanparam, K. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2006, 43: 143~148
- [41] Howell C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts [J]. *Plant disease*, 2003, 87: 4~10
- [42] Howell C.R. The role of antibiotics in biocontrol [M]. In Hamman G.E., Kubicek C.P., eds. *Trichoderma and Gliocladium*, Vol 2. Enzymes, biological control and commercial applications. London: Taylor & Francis, 1998, 173~184
- [43] Monte E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology [J]. *Int Microbiol*, 2001, 4: 1~4
- [44] Rey M., Gado-Jarana J. and Benítez T. Improved antifungal activity of a mutant of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 which produces more extracellular proteins [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 55: 604~608
- [45] Xiao-Yan S., Qing-Tao S., Shu-Tao X., Xiu-Lan C., Cai-Yun S., Yu-Zhong Z. Broad-spectrum antimicrobial activity and high stability of Trichokonins from *Trichoderma koningi* SMF2 against plant pathogens [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 260: 119~125
- [46] Lorito M., Fakas V., Rebuffat S., Bodq B. and Kubicek, C.P. Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum* [J]. *J Bacteriol*, 1996, 178: 6382~6385
- [47] Schimbock, M., Lorito M., Wang Y.L., Hayes C.K., Arisan-Atac, I., Scala F., Haman, G.E. and Kubicek C.P. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptidol antibiotics: molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60: 4364~4370
- [48] Yun, B.S., Kim, Y.S., Kim, Y.H., Lee S.J., Kim, K.S. and Yeo W.H. Peptaivirins A and B: two new antiviral peptaibols against TMV infection [J]. *Tetrahedron Lett*, 2000, 41: 1429~1431
- [49] Whipps J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere [J]. *J. Exp. Bot*, 2001, 52: 487~511
- [50] Yedidi I., Benhamou N. and Chet I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) By the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65: 1061~1070
- [51] Avni A., Bailey B.A., Mattoo A.K. and Anderson, J.D. Induction of ethylene biosynthesis in *Nicotiana tabacum* by a *Trichoderma viride* xykanase is correlated to the accumulation of 1-aninocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase and ACC oxidase transcripts [J]. *Plant Physiol*, 1994, 106: 1049~1055
- [52] Elad Y. and Kapat A. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea* [J]. *Eur J Plant Pathol*, 1999, 105: 177~189
- [53] Viterbo A., Harel M., Howitz B.A., Chet I. and Mukherjee P.K. *Trichoderma* mitogen-activated protein kinase signaling is involved in induction of plant systemic resistance [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71: 6241~6246
- [54] 黄艳青, 庄敬华, 高增贵, 徐韶, 陈捷. 木霉菌诱导甜瓜抗枯萎病相关防御反应酶系的研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36(5): 546~549
- [55] Djonovic S., Pozo M.J., Dangott L.J., Howell C.R., Kenerley C.M. Sm1, a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens* induces plant defense responses and systemic resistance [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2006, 19: 838~853
- [56] Lu Z., Tambolini R., Woo S., Zeilinger S., Lorito M., Jansson J.K. In vivo study of *Trichoderma*-pathogen-plant interactions using constitutive and inducible green fluorescent protein reporter systems [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 3073~3081
- [57] Sarnocq S., Mikkelsen, L., Vergara M., Jensen D.F., Lubeck, M., Vannaccj G. Histopathological studies of sclerotia of phytopathogenic fungi parasitized by a GFP transformed *Trichoderma virens* antagonistic strain [J]. *Mycol Res*, 2006, 110: 179~187
- [58] Marra R., Ambrosino P., Carbone V. Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens by using a proteomic approach [J]. *Curr. Genet*, 2006 (Epub ahead of print)

(责任编辑 程俊源)