

木霉防治灰霉病的研究进展

徐文^{1,2} 黄媛媛¹ 贾振华¹ 黄亚丽^{1*} 宋水山¹

(1. 河北省科学院生物研究所 河北 石家庄 050081)

(2. 河北工业大学化工学院 天津 300130)

摘要: 植物病害的生物防治是降低化学农药用量、减少环境污染的一种有效方式,木霉是现在普遍应用且生防潜力巨大的灰霉病防治真菌。目前,已经对防治灰霉的木霉菌株的筛选、应用及生防机制进行了大量而深入的研究。木霉的生防机制分为直接生防机制和间接生防机制,前者主要指木霉与灰霉病菌直接作用过程中所涉及的重寄生、抗生和营养竞争,后者是木霉通过诱导植物产生系统抗性来防治灰霉。本文对木霉直接防治灰霉病以及诱导植物产生系统抗性防治灰霉病所涉及的互作模式、信号传导途径以及所引起的防御反应进行综述,旨在通过机制的深入研究能够找到进一步提高木霉生防效果的技术方案。

关键词: 木霉, 灰霉, 生物防治, 生防机制, 直接机制, 间接机制

Advances in biocontrol of *Botrytis cinerea* by *Trichoderma* spp.

XU Wen^{1,2} HUANG Yuan-Yuan¹ JIA Zhen-Hua¹ HUANG Ya-Li^{1*} SONG Shui-Shan¹

(1. Institute of Biology, Hebei Academy of Sciences, Shijiazhuang, Hebei 050081, China)

(2. College of Chemical Engineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

Abstract: Biological control of plant diseases is an effective way to reduce chemical pesticides and environmental pollution. *Trichoderma* spp. are important biocontrol fungi that play a key role in controlling plant disease. Some studies indicate that *Trichoderma* are widely used to *Botrytis cinerea* control. At present, screening, application and biocontrol mechanism of *Trichoderma* against *B. cinerea* are widely studied. Interaction between *Trichoderma* and *B. cinerea* can activate multiple antagonistic mechanisms of *Trichoderma*. One of the biocontrol mechanism of *Trichoderma* is direct mechanism, including the hyperparasitism, antibiotic and competition. The other, indirect mechanism, is the induced system resistance of plant by *Trichoderma*. We reviewed the mechanism of *Trichoderma* against *B. cinerea* including the interaction model, signal transduction pathway and the induce defense response of plants, for an efficiency application of *Trichoderma* as biocontrol agents.

Foundation item: Hebei Applied Basic Research Program Focused on Basic Research Projects (No. 15962904); Major National Water Pollution Control Projects (No. 2015ZX07204-007)

***Corresponding author:** Tel: 86-311-83014618; E-mail: huangyali2291@163.com

Received: January 06, 2017; **Accepted:** March 29, 2017; **Published online** (www.cnki.net): March 29, 2017

基金项目: 河北省应用基础研究计划重点基础研究项目(No. 15962904); 国家“水体污染控制与治理”专项(No. 2015ZX07204-007)

***通讯作者:** Tel: 86-311-83014618; E-mail: huangyali2291@163.com

收稿日期: 2017-01-06; **接受日期:** 2017-03-29; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2017-03-29

Keywords: *Trichoderma*, *Botrytis cinerea*, Biological control, Biocontrol mechanism, Direct mechanism, Indirect mechanism

由灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)引起的灰霉病是世界范围内危害最为严重的真菌性病害,能够侵染包括番茄(*Solanum lycopersicum*)、黄瓜(*Cucumis sativus* Linn)、草莓(*Fragaria ananassa* Duch)等蔬菜水果在内的 200 多种植物。灰葡萄孢菌(*B. cinerea*)为死体营养型病原真菌,可以产生多种植物毒素和细胞壁水解酶来杀死植物寄主细胞,由于灰葡萄孢菌(*B. cinerea*)具有多种侵染模式且菌核在植物残体上长期存活并产生抗药性,导致灰霉病难于防治。据统计,每年世界上用于灰霉病防治的费用超过十亿元,即使如此该病仍给农业带来了数十亿的经济损失。与此同时,用于灰霉病防治的化学农药大量进入环境和食物,带来了严重的环境污染和人体伤害。因此,进行灰霉病的安全高效防治是目前亟待解决的问题。

木霉(*Trichoderma* spp.)属于半知菌亚门,丝孢目,从梗孢科,木霉属,是最具生防潜力的灰霉病防治真菌,在世界范围内普遍应用。对木霉防治灰霉病的作用机制研究是木霉生防研究的重点领域,本文主要对木霉防治灰霉病的直接和间接生防机制以及间接防病过程中所涉及的互作模式、传导途径以及引起植物防御反应进行综述,以期通过机制的深入研究找到进一步提高木霉生防效果的技术方案。

1 木霉防治灰霉的直接作用机制

1.1 木霉的重寄生作用

木霉能够通过重寄生对病原菌进行识别、接触、缠绕和穿透等一系列作用来抑制或溶解寄主菌丝,是木霉最重要且存在最为广泛的生防机制之一。Druzhinina 等^[1]对木霉属中 75 个种的 1 100 个菌株进行验证发现,所有的菌株都具有对灰霉的重寄生能力。Card 等显微观察了深绿木霉(*T. atroviride*) W132 对灰霉病菌的拮抗作用,观察到木霉菌丝沿着灰霉平行或缠绕生长以及随后的灰霉菌丝崩解

死亡的过程^[2]。不同菌株产生细胞壁降解酶类的能力不同,重寄生能力较强的绿色木霉(*T. virens*)和深绿木霉(*T. atroviride*)产生的细胞壁降解酶类较多,而重寄生能力弱的里氏木霉(*T. reesei*)产生的细胞壁降解酶类较少^[3]。木霉产生包括 β -1,3-葡聚糖酶、 β -1,6-葡聚糖酶、蛋白酶等在内的各种细胞壁降解酶类,无病原菌存在时这些酶类低量组成型表达,当有灰霉存在的情况下, β -1,3-葡聚糖酶^[4]、 β -1,6-葡聚糖酶以及蛋白酶的活性均上升^[5]。Yang 等的研究结果也发现,灰霉菌能够诱导哈茨木霉(*T. harzianum*) EST323 产生多种细胞壁降解酶类,引起灰霉菌细胞壁的降解和菌丝崩解^[6]。同样,在灰霉菌存在的情况下,棘孢木霉(*T. asperellum*) T32 中 α -1,3-葡聚糖酶大量表达^[7]。Mukherjee 等分析绿色木霉(*T. virens*)、深绿木霉(*T. atroviride*)以及里氏木霉(*T. reesei*)与灰葡萄孢菌(*B. cinerea*)的重寄生过程发现,木霉与病原菌相互识别、接触的初级阶段灰霉细胞壁被木霉的细胞壁降解酶降解且释放低聚物,这些低聚物会诱导木霉细胞壁降解酶类的大量产生,进一步加快了对灰霉细胞壁的降解,导致菌丝崩裂^[8]。通过分析木霉与灰霉互作过程中的转录组测序发现,灰霉对木霉细胞壁降解酶基因的诱导表达开始于二者直接接触之前^[9]。总之,木霉能产生较为全面的细胞壁降解酶系,这些物质在灰霉菌存在时大量诱导表达。木霉产生的这些酶类除了能够导致寄主菌丝细胞壁降解外还能够诱导木霉寄生于灰霉的菌丝之中、阻止灰霉生长,对灰霉起到防治的作用。

1.2 木霉的抗生素作用

抗生素作用是木霉防治灰霉的另一种重要的直接生防机制,该作用是通过产生多种具有抗生活性的次级代谢产物来实现的,目前已经发现木霉所产生的抗生物质分为两大类,一类是小分子、易挥发性物质,包括芳香族化合物、聚酮化合物、丁烯酸

内酯类及萜烯类等, 该类物质对包括灰霉在内的大多数病原真菌具有抑制活性^[8]。另一类物质是大分子代谢产物, 包括 Peptaibols、酶类等。Peptaibols 是木霉最主要的活性抗生物质, 目前发现的 317 种 Peptaibols 大多由木霉产生^[10], 是一种短链的非核糖体多肽, 具有 3 个结构特点: (1) 含有高比例的非蛋白质氨基酸残基或脂氨酸, 尤其富含 α -氨基异丁酸 (Aib); (2) 具有烷基化的 N 末端和羟基化的 C 末端; (3) 具有线性 α -螺旋, 分子量大多为 500–2 000 Da, 分子长度在 5–20 残基之间, 多为 15–20 个残基^[11]。Chugh 等研究发现, Peptaibols 的两亲性质使其能够结合到双跨膜的灰霉细胞壁的低聚体离子通道上, 使细胞渗漏和死亡^[12]。Schirmböck 等研究发现, 灰霉细胞壁可以诱导哈茨木霉(*T. harzianum*)中 Trichorzianine A1 和 A2 的产生, 这两种 Peptaibols 可以抑制灰霉孢子萌发和菌丝延长^[13]。木霉与灰霉作用过程中还产生一些没有细胞壁降解酶活性, 但在生防过程中起重要作用的酶类。如 Yang 等从哈茨木霉(*T. harzianum*) ETS323 的分泌蛋白中分离到了一种 L-氨基酸氧化酶(LAOs)同聚体^[14], LAOs 是一种黄素酶, 可以特异性催化 L-氨基酸的主体氧化脱氨生成 α -酮酸, 同时释放过氧化氢和氨, 引起灰霉菌丝的细胞凋亡^[15-16]。木霉生长过程中会产生众多不同类型的具有抗生活性的次级代谢产物, 这些代谢产物通过抗生作用抑制灰霉孢子萌发、阻止菌丝生长、进行菌丝的裂解, 达到防治灰霉病的作用。

1.3 木霉的竞争作用

木霉是一种环境适应性强、生长速度快的真菌, 在与其他微生物在同一生态位存在时能够迅速占领营养和空间, 使得竞争作用成为木霉的一种重要的拮抗机制。木霉的竞争作用主要表现为对生存空间和营养的竞争。王勇等通过平皿对峙法筛选到了 2 株高效拮抗灰霉菌的木霉菌株, 这两个菌株的生长速度为灰霉菌生长速度的 1.5 倍左右, 能够通过营养和空间竞争抑制灰霉的生长^[17]。在自然环境

中, 灰霉菌丝侵入植物组织的位点为营养丰富的植物伤口、衰老的组织以及气孔、皮孔等自然孔口, 侵入植物细胞之前需要依赖植物表面的营养才能萌发和生长, 木霉在这些位点迅速萌发和生长会与灰霉进行营养竞争, 导致灰霉孢子萌发率降低、芽管伸长变慢, 从而降低和阻止灰霉的侵染, 减少病原菌发病点的数目和植物坏死面积^[18-19]。Card 等通过显微观察的方法发现深绿木霉(*T. atroviride*)通过营养竞争抑制灰霉在草莓叶片上生长, 木霉处理过的草莓叶片上的灰霉孢子萌发的芽管长度比未处理组短 25%^[2]。

前期研究表明, 木霉能够通过直接抑制灰霉生长达到良好的生防效果, 木霉的直接生防机制包括重寄生、抗生和竞争作用, 这些作用在有些菌株中同时存在、不分伯仲, 在另一些菌株中则以一种为主, 明确木霉的直接生防机制为我们有的放矢地防治灰霉病提供了理论指导。

2 木霉防治灰霉的间接作用机制

关于木霉生防机制的早期研究主要集中在木霉与病原菌之间的直接作用, 而忽视了寄主植物的参与。近年来人们发现, 有些木霉菌株能与植物建立共生关系, 并激活植物的防御系统、降低植物的发病率^[20], 该机制称为木霉诱导的植物系统抗性, 是木霉防治灰霉的间接作用机制, 也是目前木霉生防机制研究的热点。

2.1 木霉与植物互作

木霉防治灰霉的间接作用机制包括三步: 木霉与植物互作、植物信号传导途径的激活以及植物诱导系统抗性(ISR)反应。木霉与植物互作过程中, 首先是木霉在植物中定殖, 在这一过程中, 木霉菌丝缠绕在植物根上, 形成类似附着胞的结构, 最后穿透根系皮层, 在植物表皮和皮层的细胞间生长^[21-22]。不同木霉菌株的定殖能力不同, 一些木霉菌株仅能定殖于植物根系的局部, 而另一些菌株则能够在整个根系定殖^[23]。木霉在植物表面的定殖能力与赖氨酸基序(LysM)蛋白基因相关, 含有

编码 LysM 蛋白基因的木霉菌株具有较强的植物定殖能力^[3]。

植物信号传导途径的激活是木霉产生的活性物质被植物识别引起诱导系统抗性的过程, 被植物识别的微生物决定因子叫作微生物相关分子模式(MAMPs)。有益微生物中存在多种 MAMPs 来诱导植物 ISR 的产生, 该机理与植物-病原菌互作的机制相似^[24]。木霉释放多种 MAMPs 分子来激发免疫反应(MAMPs-triggered immunity, MTI)诱导植物系统抗性, 目前已经明确的木霉效应因子有 10 多种, 包括丝氨酸蛋白酶、22 kD 木聚糖酶、几丁质酶、几丁质脱乙酰基酶、SnodPort1 蛋白、脂肽等。Djonović 等在研究绿色木霉(*T. virens*)与玉米互作过程中发现了一个表达和分泌量增加的蛋白 Sm1, 该蛋白可以作为激发子诱导玉米局部和系统抗性相关基因的表达, 进一步启动了植物的系统抗性。与野生型绿木霉(*T. virens*)相比, 缺失或过量表达 Sm1 的木霉突变株在玉米根部定殖会降低或增强玉米对病原菌的抗性^[25]。Rotblat 等研究发现绿色木霉(*T. virens*)中含有一种乙烯诱导的木聚糖酶, 该活性物质可以强力诱导番茄(*S. lycopersicum*)和烟草(*Nicotiana tabacum* L.)的系统抗性^[26]。Peptailbols 和一些次级代谢物除了能够直接抑制病原菌外, 也能诱导植物产生抗病性^[27-28]。另外, 木霉产生的酶类降解植物细胞壁所产生的多糖类、低分子量化合物也是能诱导植物产生系统抗性的激发子^[29-31]。

自 Bigirimana 等^[32]首次发现木霉可诱导植物系统抗性之后, 研究者们采用病理学、分子生物学等多种手段证明了绿色木霉(*T. virens*)、棘孢木霉(*T. asperellum*)、深绿木霉(*T. atroviride*)、哈茨木霉(*T. harzianum*)等均能诱导植物获得系统抗性, 对木霉与植物互作过程中所涉及的信号识别、定殖过程进行了大量研究, 使利用木霉的诱导抗性进行灰霉病的防治更为可行。

2.2 木霉诱导植物系统抗性的信号传递途径

在植物对木霉 MAMPs 识别的过程中, 促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联反应作为植物早期反

应被激活, MAPK 级联反应将胞外信号刺激转变为胞间反应扩大的同时将信号经过三级可逆磷酸激酶进行传递^[33-34], MAPK 系统的激活导致底物蛋白的磷酸化以及与之相连接的一系列相关信号分子的改变。Shoresh 等的研究表明当植物根部接种棘孢木霉(*T. asperellum*) T203 后, 黄瓜(*C. sativus* Linn)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中的 MAPK 和 MPK3 途径分别被激活^[35]。Mathys 等通过高通量测序技术分析拟南芥(*A. thaliana*)根部接种钩状木霉(*T. hamatum*) T382 后的转录组, 研究发现木霉的根部接种导致拟南芥(*A. thaliana*)叶片中的 MPK3 同源物和 MAPK 激酶编码基因(MKK4)受到诱导表达, 激活拟南芥(*A. thaliana*)的系统抗性, 灰霉病的发生受到抑制^[36]。Lizasa 等^[37]和 Petutschnig 等^[38]研究发现, 拟南芥(*A. thaliana*)中的 LysM 受体蛋白激酶 CERK1 可以与几丁质结合, 从而启动蛋白激酶的磷酸化级联反应, 激发植物的系统抗性。Wan 等研究也表明, 拟南芥(*A. thaliana*)中 LysM 受体激酶在传导几丁质信号中起着重要的作用, 几丁质能使拟南芥(*A. thaliana*)的抗病能力增强^[39]。Brotman 等研究拟南芥(*A. thaliana*)接种木霉属(*T. asperelloides*) T203 第 24 h 后发现拟南芥(*A. thaliana*)根部也存在着相同的 GO 过程^[40]。

随着分子生物学技术的发展, 对木霉诱导的植物激素信号传递途径也有了较为明确的认识。植物激素的功能是将外界信号转换为有活性的防御反应, 包括系统获得抗性 SAR 和诱导系统抗性 ISR。其中 SAR 主要指由于病原菌感染所引起的植物抗性, 在该过程中有水杨酸(SA)的参与、激活病程相关蛋白的表达, 引起植物对病原菌侵染的长效抗性。ISR 是由植物根围微生物所引起的植物系统抗性, 所涉及的信号途径为茉莉酸/乙烯(JA/ET)途径。研究发现, 在不同菌株、时间等环境条件下, 木霉能够诱导植物产生 SA 介导 SAR 和 JA/ET 介导的 ISR 反应。

分析钩状木霉(*T. hamatum*) T382 接种到拟南芥(*A. thaliana*)根部 48 h 之后拟南芥(*A. thaliana*)

叶片的转录组发现,该阶段是以 JA/ET 信号通路为主的诱导系统抗性;另外,GO 分析显示拟南芥(*A. thaliana*)中也出现了 SA 信号反应,SA 途径的 *WRKY6*、*WRKY53*、*PR1*、*PR2*、*PR5* 等基因诱导表达,但该途径不占主导地位^[36]。本课题组采用 Real time PCR 的方法分析了长枝木霉(*T. longibrachiatum*) H9 根部诱导黄瓜(*C. sativus* Linn) 72 h 后 SA 和 JA 信号途径相关基因的表达情况发现,SA 信号通路的基因 *PAD4* 和 JA 信号通路的基因 *LOX1*、*LOX2*、*AOS* 均出现上调表达,其中 SA 信号通路的相关基因上调表达更为明显,而接种木霉 96 h 后发现 JA 信号通路相关基因上调明显;对长枝木霉(*T. longibrachiatum*) H9 诱导处理 96 h 后黄瓜(*C. sativus* Linn)叶片的转录组进行分析,KEGG 结果显示与茉莉酸和乙烯相关的基因明显上调,表明木霉诱导植物产生的信号转导途径存在时效性(未发表)。Ruocco 等^[41]使用长枝木霉(*T. longibrachiatum*)进行番茄(*S. lycopersicum*)的处理得到了相似的结果,在番茄(*S. lycopersicum*)感应木霉的初期阶段水杨酸大量积累,含量多于 JA,在这一阶段 SA 起主导作用,后期 JA 含量有所增加,说明在木霉与番茄(*S. lycopersicum*)互作过程中会先后激活番茄(*S. lycopersicum*)的 SA 和 JA 途径。Morán-Diez 等^[42]分析接种哈茨木霉(*T. harzianum*) T34 后 24 h 时的拟南芥(*A. thaliana*)叶片转录组结果发现只有极少数基因存在差异表达,而 SA 和 JA/ET 信号通路的标记基因为下调表达,接种 48 h 后再次进行转录组分析发现两个通路的标记基因则都出现显著上调,该结果显示哈茨木霉(*T. harzianum*) T34 限制初始的植物防御反应,从而使其在植物根部顺利定殖。与 Morán-Diez 的结果不同,Brotman 等^[40]在拟南芥(*A. thaliana*)根部接种 *T. asperelloides* 24 h 后对拟南芥(*A. thaliana*)的转录组分析发现,JA 生物合成的相关基因 *WKRY18* 和 *WKRY40* 表达量显著上调,这两个转录因子通过抑制 JAZ 因子的表达来激活 JA 信号通路,拟南芥(*A. thaliana*)的防御相关基因表达未出现下调。

Korolev 等^[43]研究了植物经木霉诱导后对灰霉抗性的表型,得到了更多关于 SA、JA/ET 介导的木霉诱导植物系统抗性的证据,用哈茨木霉(*T. harzianum*) T39 处理拟南芥(*A. thaliana*)根部,所有 JA/ET 途径的突变体都不能响应木霉诱导产生对灰霉的抗性,而野生型拟南芥(*A. thaliana*)能够产生对灰霉的诱导抗性。同样,哈茨木霉(*T. harzianum*) T78 定殖于番茄(*S. lycopersicum*)根部之后,野生型番茄(*S. lycopersicum*)能够降低灰霉的侵染,但是 JA、SA 或 ABA 途径受阻的突变体则不能产生灰霉病抗性,说明 JA、SA 等激素在木霉诱导信号传递过程中具有一定作用^[44]。另外,利用不同的番茄(*S. lycopersicum*)突变体也确认了 JA 信号传递途径在传递木霉信号、激发对灰霉病系统抗性过程中所起的作用^[45]。

由近年来的研究结果可以看出,木霉能够激活 SA 和 JA/ET 信号传导途径,但是不同的环境条件如:木霉菌株、试验作物、测定时间等,其信号传导途径会存在很大的差别,因此规范试验条件、增加供试植物及木霉菌株的种类以进一步明确二者之间互作的反应模式对木霉的稳定应用具有重要的意义。

2.3 木霉诱导植物产生的次级代谢物

木霉与植物互作会诱导植物体内产生一些次级代谢产物,如苯丙氨酸解氨酶、多酚氧化酶、超氧化物歧化酶、过氧化酶、几丁质等,这些次级代谢产物在灰霉防治中起着重要的作用。黄亚丽等的研究表明,将哈茨木霉(*T. harzianum*) Tr-92 接种到黄瓜(*C. sativus* Linn)根部后,叶片中的过氧化物酶、多酚氧化酶、 β -1,3 葡聚糖酶、苯丙氨酸解氨酶等酶活性显著上升,灰霉的发病率降低^[20]。无菌水培条件下,用棘胞木霉(*T. asperellum*) T-203 菌株处理黄瓜(*C. sativus* Linn)幼苗时,黄瓜(*C. sativus* Linn)体内 PAL 和 HPL 的含量增加^[46]。PAL 是苯丙素途径的第一辅酶,是产生抗菌酚类物质以及水杨酸的主要途径,Brotman 等研究发现将 *T. asperelloides* T203 处理拟南芥(*A. thaliana*)根部后,苯丙素途径 *PAL1*、

PAL2 和 *4CL* 基因均上调表达^[40]。将钩状木霉(*T. hamatum*) T382 接种到苯丙素合成途径的拟南芥(*A. thaliana*)突变体时, 木霉不能激发这些突变体对灰霉的诱导系统抗性(ISR), 进一步说明苯丙氨酸解氨酶类物质在植物抵抗灰霉方面的作用。Calderón 等证明了绿色木霉(*T. virens*)的激发子处理葡萄细胞悬浮液后, 其中的白藜芦醇含量增加, 白藜芦醇是一种具有灰霉抑制活性的抗毒素^[47]。Shoresh 采用转录组分析和花青素含量定量分析确定了钩状木霉(*T. hamatum*) T382 接种于拟南芥(*A. thaliana*)根部后花青素的合成被显著诱导^[35]。

综上所述, 木霉除了能够采用直接方式拮抗灰霉之外, 还能通过定殖于植物根部并成为植物的共生体进而诱导植物产生抗病性的间接方式进行灰霉的防治。该过程是一个复杂的过程, 涉及到木霉对植物信号的识别定殖、木霉信号在植物中传导、引起植物激素分泌和基因表达的变化, 最终体现为植物抗病能力的增强。

3 展望

木霉是应用最为广泛、生防能力最强的真菌生防因子之一, 在化学农药的替代化和减量化方面起着重要的作用, 木霉生防机制的研究一直是生防工作的热点。木霉对灰霉的防治存在多机制性, 包括重寄生、抗生及竞争的直接拮抗作用以及诱导植物系统抗性的间接拮抗作用, 木霉的田间防效常常是多种机制协同作用的结果。随着研究的深入, 发现木霉的生防机制非常复杂, 常因木霉的种类、菌株、寄主植物的不同而变化, 木霉诱导植物产生系统抗性时也存在明显的时效性和剂量性, 生防机制不明会引起木霉的不正确使用并造成木霉生防效果的波动。因此, 明确木霉的生防机制并指导木霉制剂的合理应用是进一步稳定和提高木霉制剂防效的关键。然而, 到目前为止, 对木霉拮抗机制的研究特别是涉及木霉-植物-灰霉三方互作研究仅涉及少数木霉菌株和拟南芥(*A. thaliana*)、番茄(*S. lycopersicum*)和莴苣(*Lactuca sativa*)等少数植物, 关于木霉诱导植物产生灰霉病抗性的基因组、转录组

和蛋白组分析的报道也很少。随着蛋白组学和生物信息学的发展, 特别是第三代测序技术的建立, 对木霉-植物-灰霉三方互作的研究会越来越深入, 并且三方互作系统中有序列越来越多, 这也会加深研究者对木霉-植物-灰霉三方互作机制的认识, 为木霉的田间应用提供更多的理论依据。

参考文献

- [1] Druzhinina IS, Seidl-Seiboth V, Herrera-Estrella A, et al. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(10): 749-759
- [2] Card SD, Walter M, Jaspers MV, 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
- [3] Kubicek CP, 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: R40
- [4] Mukherjee PK, Horwitz BA, Herrera-Estrella A, et al. *Trichoderma* research in the genome era[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2013, 51(1): 105-129
- [5] Vos CMF, de Cremer K, Cammue BPA, et al. The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 16(4): 400-412
- [6] Yang HH, Yang SL, Peng KC, et al. Induced proteome of *Trichoderma harzianum* by *Botrytis cinerea*[J]. *Mycological Research*, 2009, 113(9): 924-932
- [7] Sanz L, Montero M, Redondo J, et al. Expression of an α -1, 3-glucanase during mycoparasitic interaction of *Trichoderma asperellum*[J]. *FEBS Journal*, 2005, 272(2): 493-499
- [8] Mukherjee PK, Horwitz BA, Kenerley CM. Secondary metabolism in *Trichoderma*-a genomic perspective[J]. *Microbiology*, 2012, 158(1): 35-45
- [9] Seidl V, Song LF, Lindquist E, et al. Transcriptomic response of the mycoparasitic fungus *Trichoderma atroviride* to the presence of a fungal prey[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10(1): 567
- [10] Song XY, Zhang YZ, Wang YX. Antimicrobial peptides peptaibols from *Trichoderma*—a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(4): 438-444 (in Chinese)
宋晓妍, 张玉忠, 王元秀. 木霉 Peptaibols 抗菌肽的研究进展[J]. *微生物学报*, 2011, 51(4): 438-444
- [11] Pan S, Liu L, Wang WM. Identification of antibiotic peptaibols from fermentation broth of *Trichoderma harzianum*[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2012, 28(4): 528-536 (in Chinese)
潘顺, 刘雷, 王为民. 哈茨木霉发酵液中 Peptaibols 抗菌肽的鉴定及活性研究[J]. *中国生物防治学报*, 2012, 28(4): 528-536
- [12] Chugh JK, Wallace BA. Peptaibols: models for ion channels[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2001, 29(4): 565-570
- [13] Schirmböck BM, Lorito M, Wang YL, 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*, 1995, 60(12): 4364-4370
- [14] Yang CA, Cheng CH, Liu SY, et al. Identification of antibacterial mechanism of L-amino acid oxidase derived from *Trichoderma harzianum* ETS323[J]. *FEBS Journal*, 2011, 278(18): 3381-3394
- [15] Cheng CH, Yang CA, Peng KC. Antagonism of *Trichoderma harzianum* ETS 323 on *Botrytis cinerea* mycelium in culture conditions[J]. *Phytopathology*, 2012, 102(11): 1054-1063

- [16] Cheng CH, Yang CA, Liu SY, et al. L-Amino acid oxidase-induced apoptosis in filamentous *Botrytis cinerea*[J]. Analytical Biochemistry, 2012, 420(1): 93-95
- [17] Wang Y, Wang WL, Huo JF, et al. The screen of the antagonism of *Trichoderma* spp. against *Botrytis cinerea* and sequence analysis of translation elongation factor[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(9): 209-213 (in Chinese)
王勇, 王万立, 霍建飞, 等. 灰葡萄孢霉高效拮抗木霉菌株的筛选及其翻译延伸因子序列分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(9): 209-213
- [18] Benítez T, Rincón AM, Limón MC, et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains[J]. International Microbiology, 2004, 7(4): 249-260
- [19] Nassr S, Barakat R. Effect of factors on conidium germination of *Botrytis cinerea* in vitro[J]. International Journal of Plant and Soil Science, 2013, 2(1): 41-54
- [20] Huang YL, Wang SX, Du XZ, et al. Isolation and identification of a novel strain, *Trichoderma* Tr-92, and its induced resistance response in cucumber against *Botrytis cinerea*[J]. Plant Protection, 2013, 39(1): 38-43 (in Chinese)
黄亚丽, 王淑霞, 杜晓哲, 等. 一株具有诱导抗性木霉菌株的筛选及其对黄瓜灰霉病诱导抗性的初步研究[J]. 植物保护, 2013, 39(1): 38-43
- [21] Shores M, Harman GE, Mastouri F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents[J]. Annual Review of Phytopathology, 2010, 48(1): 21-43
- [22] Hohmann P, Jones EE, Hill RA, et al. Ecological studies of the bio-inoculant *Trichoderma hamatum* LU592 in the root system of *Pinus radiata*[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 80(3): 709-721
- [23] Harman GE, Shores M. The mechanisms and applications of symbiotic opportunistic plant symbionts[A]//Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management[C]. NATO Security Through Science. Dordrecht: Springer, 2007: 131-155
- [24] van Der Ent S, van Wees SCM, Pieterse CMJ. Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes[J]. Phytochemistry, 2009, 70(13/14): 1581-1588
- [25] Djonović S, Vargas WA, Kolomiets MV, et al. A proteinaceous elicitor Sm1 from the beneficial fungus *Trichoderma virens* is required for induced systemic resistance in maize[J]. Plant Physiology, 2015, 145(3): 875-889
- [26] Rotblat B, Enshell-Seijffers D, Gershoni JM, et al. Identification of an essential component of the elicitation active site of the EIX protein elicitor[J]. The Plant Journal, 2002, 32(6): 1049-1055
- [27] Djonović S, Pozo MJ, Dangott LJ, et al. Sm1, a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens* induces plant defense responses and systemic resistance[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2006, 19(8): 838-853
- [28] Martinez C, Blanc F, Le Claire E, et al. Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon cotyledons by active or heat-denatured cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*[J]. Plant Physiology, 2001, 127(1): 334-344
- [29] Harman GE, Howell CR, Viterbo A, et al. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts[J]. Nature Reviews Microbiology, 2004, 2(1): 43-56
- [30] Woo SL, Lorito M. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol[A]//Vurro M, Gressel J. Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management. NATO Security through Science Series[M]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007: 107-130
- [31] Woo SL, Scala F, Ruocco M, et al. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants[J]. Phytopathology, 2006, 96(2): 181-185
- [32] 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
- [33] MAPK Group, Ichimura K, Shinozaki K, et al. Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature[J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(7): 301-308
- [34] Opendakker K, Remans T, Vangronsveld J, et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinases in plant metal stress: regulation and responses in comparison to other biotic and abiotic stresses[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(6): 7828-7853
- [35] Shores M, Gal-On A, Leibman D, et al. Characterization of a mitogen-activated protein kinase gene from cucumber required for *Trichoderma*-conferred plant resistance[J]. Plant Physiology, 2006, 142(3): 1169-1179
- [36] Mathys J, de Cremer K, Timmermans P, et al. Genome-wide characterization of ISR induced in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma hamatum* T382 against *Botrytis cinerea* infection[J]. Frontiers in Plant Science, 2012, 3: 108
- [37] Lizasa E, Mitsutomi M, Nagano Y. Direct binding of a plant LysM receptor-like kinase, LysM RLK1/CERK1, to chitin in vitro[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(5): 2996-3004
- [38] Petutschnig EK, Jones AME, Serazetdinova L, et al. The lysin motif receptor-like kinase (LysM-RLK) CERK1 is a major chitin-binding protein in *Arabidopsis thaliana* and subject to chitin-induced phosphorylation[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(37): 28902-28911
- [39] Wan JR, Zhang XC, Neece D, et al. A LysM receptor-like kinase plays a critical role in chitin signaling and fungal resistance in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2008, 20(2): 471-481
- [40] Brotman Y, Landau U, Cuadros-Inostroza Á, et al. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance[J]. PLoS Pathogens, 2013, 9(3): e1003221
- [41] Ruocco M, Lanzuise S, Lombardi N, et al. Multiple roles and effects of a novel *Trichoderma hydrophobin*[J]. Molecular Plant-Microbe Interaction, 2015, 28(2): 167-179
- [42] Morán-Diez E, Rubio B, Dominguez S, et al. Transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* after 24 h incubation with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*[J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(6): 614-620
- [43] Korolev N, David DR, Elad Y. The role of phytohormones in basal resistance and *Trichoderma*-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*[J]. Biocontrol, 2008, 53(4): 667-683
- [44] Martínez-Medina A, Fernández I, Sánchez-Guzmán MJ, et al. Deciphering the hormonal signalling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato[J]. Frontiers in Plant Science, 2013, 4: 206
- [45] Yang YX, de Coninck B, Cammue B, et al. Induced systemic resistance (ISR) signaling pathways involved in the *Trichoderma hamatum*-tomato-*Botrytis cinerea* tripartite system[A]//Induced Resistance in Plants Against Insects and Diseases: Leaping from Success in the Lab to Success in the Field Location[M]. IOBC Bulletin, 2013
- [46] 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
- [47] Calderón AA, Zapata JM, Muñoz R, et al. Resveratrol production as a part of the hypersensitive-like response of grapevine cells to an elicitor from *Trichoderma viride*[J]. New Phytologist, 2010, 124(3): 455-463