

植物内生木霉菌研究进展

李梅¹, 田莹^{1,2}, 蒋细良^{1*}

(1. 中国农业科学院植物保护研究所/农业部作物有害生物综合治理综合性重点实验室, 北京 100193; 2. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201)

摘要: 内生菌在植物体内广泛存在, 内生木霉菌是常见的植物内生真菌, 一些内生木霉菌能够通过拮抗、重寄生、产生次生代谢产物、诱导植物系统抗性等方式促进植物生长、提高植物的抗逆性和抗病性, 是重要的生防微生物资源, 受到广泛关注。本文综述了近年来内生木霉菌的种类、分布、功能、生防作用机理, 以及内生木霉菌与宿主植物互作的分子机制等方面的最新研究进展, 为促进内生木霉菌作为生防因子的研究和利用提供参考。

关键词: 内生木霉; 拮抗; 重寄生; 次生代谢; 诱导抗性

中图分类号: S476 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9261(2020)02-0155-08

Advances in Research on Endophytic *Trichoderma* in Plants

LI Mei¹, TIAN Ying^{1,2}, JIANG Xiliang^{1*}

(1. Key Laboratory of Integrated Pest Management in Crops, Ministry of Agriculture/Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: Endophytes are widely present in plants. Endophytic *Trichoderma* are common endophytic fungi, some of them can promote plant growth, improve plant stress and disease resistance by antagonism, mycoparasitism, producing secondary metabolites, and inducing system resistance in plants. Endophytic *Trichoderma* received widespread attention in recent years as important biocontrol microbial resource. Recent research advances on the species, distribution and function of endophytic *Trichoderma*, and the molecular mechanism of interaction between endophytic *Trichoderma* and their host plants are reviewed in this paper for providing a basis on the utilization of Endophytic *Trichoderma* as biocontrol factors.

Key words: endophytic *Trichoderma*; antagonism; mycoparasitism; secondary metabolism; induced resistance

内生菌一词最先是由 de Bary 提出, 是一个生态学概念, 内生菌在与宿主的长期共存、协同进化过程中, 形成了稳定的微生态环境。广义的植物内生真菌指一直生活在植物体内或其生活史的一定阶段处于植物体内的真菌; 狭义的植物内生真菌指存在于健康植株的组织器官中, 对宿主不形成明显侵染的真菌^[1]。植物为内生菌生长提供必须的能量和营养, 而内生菌通过自身的代谢或信号转导作用对植物产生影响。因此内生真菌与宿主植物之间主要表现为互惠互利的共生关系, 有重要的生物学研究价值^[2]。

内生真菌在植物体内普遍存在, 生物多样性丰富, 其数量和种类受到宿主植物的种类、年龄及所处环境的影响。近几十年来, 人们从 55 科 108 属 153 种植物和 一些海洋藻类中分离到的内生真菌达 171 属^[3]。如杨忆^[4]从灰枣枣果中分离到 78 株内生真菌, 分别属于 9 种 16 属, 其中优势属为链格孢属 *Alternaria* 和茎点霉属 *Phoma*。冯皓等^[3]在桉树中分离到 45 株内生真菌, 分别属于茎点霉属、刺盘孢属 *Colletotrichum*、

收稿日期: 2019-07-16

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFD0200901); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (S2019XM14)

作者简介: 李梅, 研究员, E-mail: limei@caas.cn; *通信作者, 研究员, E-mail: jiangxiliang@caas.cn。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2020.02.001

镰刀菌属 *Fusarium* 等 20 个属, 其中部分菌株能够产生次生代谢产物, 对多种病原真菌有不同程度的拮抗作用。易晓华等^[5]在除虫菊中分离鉴定了 117 株内生真菌, 其中 56 株对番茄灰霉菌 *Botrytis cinerea*、辣椒疫霉 *Phytophthora capsici*、苹果炭疽病菌 *Glomerella cingulata*、黄瓜霜霉病菌 *Pseudoperonospora cubensis* 等 6 种常见病原真菌有不同程度的抑制作用, 有重要的应用潜力。

1 内生木霉菌的种类、分布及功能

木霉 *Trichoderma* spp. 是世界性分布的丝状真菌, 在土壤、植物、植物残体和根际普遍存在^[6]。木霉属真菌目前已知 250 余种 (<http://www.indexfungorum.org>、<http://www.isth.info/tools/molkey/index.php>)^[7]。一些木霉菌作为内生真菌在植物叶片、根系组织、树木的边材中存活, 赋予宿主一系列新的属性, 是重要的生防微生物资源, 日益受到关注^[8-12]。Cummings 等^[6]在马来西亚婆罗洲的 35 种共计 58 属的植物根系中分离内生木霉, 检测到非洲木霉 *T. afroharzianum*、*T. asperelloides*、棘孢木霉 *T. asperellum*、贵州木霉 *T. guizhouense*、里氏木霉 *T. reesei*、粗壮木霉 *T. strigosu*、绿木霉 *T. virens* 等多种木霉菌。其中棘孢木霉、哈茨木霉 *T. harzianum* 和绿木霉是常见的类群。Chaverri 等^[13]从亚马逊盆地的巴西橡胶树和桂枝中分离到内生木霉菌种——亚马逊木霉 *T. amazonicum*, 为新纪录木霉菌种, 与其亲缘关系最近的木霉菌为侧耳木霉 *T. pleuroticola* 和 *T. pleuroti*。鲁海菊等^[14]从黄瓜和枇杷中分离到 12 株内生木霉。夏晓敏^[15]从香蕉根系中分离得到 25 株内生木霉, 分别属于棘孢木霉、短密木霉、*T. brevicompactum*、绿木霉和黄绿木霉 *T. aureoviride* 4 个种。

研究发现, 一些内生木霉菌有多种功能, 包括拮抗病原菌、耐盐、耐化学肥料及农药^[16]、产生次级代谢产物、诱导植物抗病性等。如黄瓜内生木霉 P3.9 能够产生次生代谢产物, 拮抗枇杷根腐病菌枇杷叶拟盘多毛孢 *Pestalotiopsis eriobotrifolia* 还具有固氮、抗化学农药、降解难溶磷酸盐、降解纤维素等多种功能^[14]。香蕉内生菌棘孢木霉 D21 和绿木霉 C6 对香蕉枯萎病有较好的拮抗效果^[15]。因此, 挖掘多功能内生木霉菌, 有重要的研究和应用前景。

2 具有生防作用的内生木霉菌

木霉菌能够与植物叶片组织、皮层、根系形成共生关系, 在植物组织细胞间延伸成为内生真菌。由于植物防御反应限制了木霉菌进一步向内生长, 因此这种相互作用多限于植物外面几层的细胞^[16,17]。内生木霉除了对植物生长、根系发育和养分吸收产生积极影响之外^[12], 对植物病害发生的严重程度也产生影响, 其中以对植物病原菌有拮抗作用的内生木霉菌, 尤其受到国内外的广泛关注。分离内生木霉菌一般经过以下几个步骤: 对植物的根、茎、叶等进行表面清洗, 去除杂质特别是根际土壤; 表面消毒去除杂菌污染; 在真菌培养基上培养, 对获得的真菌进行菌种鉴定; 回接到植株上进行验证, 获得内生木霉菌菌株。表 1 列出了已报道的对植物病原菌有拮抗作用的内生木霉菌。

3 内生木霉菌的生防作用机理

植物内生真菌能通过多种机制防治植物病害, 包括直接寄生^[48]、产生拮抗物质^[33,49]、与病菌竞争营养物质^[10,50]、诱导寄主植物局部和系统抗病性等^[12,51,52]。内生木霉菌与非内生木霉菌相比, 其生长速度缓慢, 生物量低, 并且与病原菌直接接触机会较少, 因此与病原菌竞争营养物质、直接寄生的作用相对较弱, 其防病机制主要表现为产生次生代谢产物以及诱导植物抗病性等方面^[13,53]。

3.1 重寄生作用

重寄生作用是木霉菌拮抗病原菌的重要机制^[54]。木霉菌在与植物病原菌互作过程中, 其菌丝会沿着病原菌的菌丝生长、缠绕、刺穿后吸收病原菌菌丝内的营养, 导致病原菌死亡。但植物内生木霉重寄生病原菌的报道较少。Sundram 等^[55]筛选了来自油棕根和茎的 40 株内生木霉菌, 发现其中 7 株对灵芝 *Ganoderma boninense* 具有重寄生和抗生作用。来自可可树的内生木霉 *T. ovalisporum*-DIS 70a、*T. hamatum*-DIS 219b 和 DIS 376f 能够重寄生辣椒疫霉^[56]。来自桉树的哈茨木霉 ND-13, 能够重寄生桉树焦枯病菌 *Calonectria pseudoreteauidii*, 进一步检测发现 ND-13 不产生几丁质酶, 但产生 β -葡聚糖酶, 推测 ND-13 通过产生 β -葡聚糖酶发挥其溶菌作用^[36]。

表 1 具有拮抗病原菌或抗病性的内生木霉菌

Table 1 Endophytic *Trichoderma* sp. with disease resistance or antagonistic to pathogenic microorganism of plants

内生木霉 Endophytic <i>Trichoderma</i>	来源/部位 Host/tissue	拮抗对象 Pathogens	参考文献 References
棘孢木霉 <i>T. asperellum</i>	香蕉/根 Banana/roots	尖孢镰刀菌古巴专化型 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	[18]
盖姆斯木霉 <i>T. gamsii</i>			
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> sw-2			
棘孢木霉 <i>T. asperellum</i>	可可树/叶	棕榈疫霉 <i>Phytophthora palmivora</i>	[19,20]
好战木霉 <i>T. martiale</i>	<i>Theobroma cacao</i> /leaves		
子座木霉 <i>T. stromaticum</i>			
绿木霉 <i>T. virens</i>			
木霉 <i>T. spp.</i>			
棘孢木霉 <i>T. asperellum</i> D21	香蕉/根	香蕉枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i>	[15]
绿色木霉 <i>T. viride</i> C6	Banana/roots		
深绿木霉 <i>T. atroviride</i> S7	玉米茎 Maize/stalks	轮枝镰刀菌 <i>F. verticillioides</i>	[21]
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> O11			
康宁木霉 <i>T. koningii</i> S8			
深绿木霉 <i>T. atroviride</i>	柏科柏木属/叶	稻瘟病菌 <i>M. oryzae</i> , 色二孢属真菌 <i>Diplodia seriata</i> ,	[22]
康宁木霉 <i>T. koningii</i>	<i>Cupressus</i> /leaves	<i>Phaeobotryon cupressi</i> , <i>Spencermartinsia viticola</i>	
深绿木霉 <i>T. atroviride</i>	杨树/叶 <i>Populus</i> sp./leaves	杂合锈病菌 <i>Melampsora</i> × <i>columbiana</i>	[23]
橘绿木霉 <i>T. citrinoviride</i>	橡树 Cork oak tree	树花地衣葡萄座腔菌 <i>Botryosphaeria obtusa</i> , 松枯梢病菌 <i>Diplodia pinea</i> , <i>Apiognomonina quercina</i> , <i>B. corticola</i> , <i>B. parva</i> , <i>D. scrobiculata</i> , <i>Biscognauxia mediterranea</i>	[24]
猬木霉 <i>T. erinaceum</i>	决明子/树皮 <i>Cassia tora</i> /barks	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i> , 齐整小核菌 <i>Sclerotium rolfsii</i> , 稻小核菌 <i>Sclerotium oryzae</i> , 稻长蠕孢 <i>Helminthosporium oryzae</i>	[25]
鞭丝木霉 <i>T. flagellatum</i>	咖啡树/根	镰刀菌 <i>F. spp.</i> , 交链孢菌 <i>A. alternata</i> , 灰葡萄孢 <i>B. cinerea</i> ,	[26]
木霉 <i>T. sp.</i> C.P.K.1812	<i>Coffea arabica</i> /roots	核盘菌 <i>S. sclerotiorum</i>	
盖姆斯木霉 <i>T. gamsii</i>	毛果杨/叶 <i>Populus trichocarpa</i> /leaves	杂合锈病菌 <i>Melampsora</i> × <i>columbiana</i>	[27]
盖姆斯木霉 <i>T. gamsii</i> YIM PH30019	三七 <i>Panax notoginseng</i>	草茎点霉 <i>Phoma herbarum</i> , 柔毛镰孢菌 <i>F. flocciferum</i> , 木栖柱孢霉 <i>Scytalidium lignicola</i> , 黑附球菌 <i>Epicocum nigrum</i>	[28]
钩状木霉 <i>T. hamatum</i>	小麦/叶 <i>Triticum aestivum</i> /leaves	小麦黄斑叶枯病菌 <i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	[29]
钩状木霉 <i>T. hamatum</i>	番茄/根	尖孢镰刀菌番茄专化型 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	[30]
粘绿木霉 <i>T. virens</i>	Tomato/ root		
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i>	欧洲七叶树 <i>Aesculus hippocastanum</i>	尖孢镰刀菌 <i>F. oxysporum</i>	[31]
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i>	樟子松 <i>Pinus sylvestris</i>		
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i>	番石榴/叶 Guava tree/leaves	胶孢炭疽菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> 疮痂病菌 <i>Pestalotia psidii</i>	[32]
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i>	枸骨 <i>Lxel cornuta</i>	番茄灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>	[33]
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> 292	健康植物	小麦赤霉病菌 <i>F. gramineum</i> , 苹果轮纹病菌 <i>B. berengriana</i> ,	[34]
康宁木霉 <i>T. koningii</i> 171	Healthy plants	油菜菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i> , 可可球二孢菌 <i>B. theobromae</i>	
长毛木霉 多孢木霉 <i>T. polysporum</i> BDs0-13			
里氏木霉 <i>T. reesei</i> DBs57			
绿色木霉 <i>T. viride</i> 40			
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> LH-7	芦荟 <i>Aloe barbadensis</i>	棉花枯萎病菌 <i>F.oxysporium</i> , 苹果轮纹病菌 <i>Macrophoma kawatsukai</i> , 苹果早期落叶病菌 <i>Alternaria alternate</i> , 番茄灰霉病菌 <i>B. cinerea</i> , 小麦赤霉病菌 <i>G. saubinetii</i> , 柑橘炭疽病菌 <i>C. gloeosporioides</i> , 棉花黄萎病菌 <i>Verticillium dahliae</i> , 郁金香种球腐烂病菌 <i>F. proliferatum</i> , 小麦纹枯病菌 <i>R. cerealis</i>	[35]
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> ND-13	桉树/叶片 Eucalyptus/leaves	桉树焦枯病菌 <i>Calonectria pseudoreteauidii</i>	[36]
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> Psn86	人参 <i>Panax jinseng</i>	人参灰霉菌 <i>B. cinerea</i>	[37]
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> Rifai	枸骨 <i>Lxel cornuta</i>	黄瓜立枯病菌 <i>R. solani</i>	[38]

续表 1

内生木霉 Endophytic <i>Trichoderma</i>	来源/部位 Host/tissue	拮抗对象 Pathogens	参考文献 References
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> WC-QHY-02-03	青蒿 <i>Artemisia annua</i>	猕猴桃褐腐病菌 <i>B. dothidea</i> B12, 猕猴桃炭疽病菌 <i>Collectotrichum</i> sp. B6, 猕猴桃褐腐病菌 <i>Monilinia laxa</i> LHF, 猕猴桃软腐病菌 <i>Phoma</i> sp. HGHM, 猕猴桃褐斑病菌 <i>A. alternate</i> 丛枝病菌 <i>Crinipellis perniciosa</i>	[39]
卵孢木霉 <i>T. ovalisporum</i>	可可幼苗/荚 Cocoa seedlings/ pods	立枯丝核菌 <i>R. solani</i>	[40]
里氏木霉 <i>T. reesei</i>	马铃薯块茎 Potato/ tuber	冷杉枯梢病菌 <i>Gremmeniella abietina</i>	[41]
绿色木霉 <i>T. viride</i>	黑松/叶 <i>Pinus halepensis</i> /leaves	大丽轮枝菌 <i>V. dahliae</i>	[42]
木霉 <i>T. sp.</i>	茄子/根 <i>Solanum melongena</i> /roots	枇杷根腐病菌 <i>Pestalotiopsis microspora</i>	[43]
木霉 <i>T. sp.</i> P3.9	枇杷树/韧皮部 <i>Eriobotrya japonica</i> /phloem	黄爪灰霉菌 <i>Botrytis cinerea</i> , 水稻纹枯病菌 <i>R. solani</i> , 油菜菌核病菌 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , 稻瘟病菌 <i>Magnaporthe oryzae</i> , 稻曲病菌 <i>Ustilaginodea virens</i> , 小麦赤霉病菌 <i>Gibberella zeae</i>	[44,45]
紫杉木霉 <i>T. taxi</i> sp. nov.	南方红豆杉 <i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i>	油菜菌核病菌 <i>S. sclerotiorum</i>	[46]
绿色木霉 <i>T. viride</i> HJZ3	红豆/茎 <i>Ormosia hosiei</i> /stems	苹果黑星病菌 <i>Venturia inaequalis</i>	[47]
绿色木霉 <i>T. viride</i>	西洋苹果/叶 <i>Malus pumila</i> /leaves		

3.2 内生木霉菌的抗生素作用

木霉菌能产生多种次生代谢产物, 一些代谢产物具有拮抗病原微生物、诱导植物产生抗病性或诱导植物产生代谢产物的作用。研究表明, 药用植物内生真菌可产生与宿主植物具有相同药理活性的代谢产物, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌等多种功能, 同时它们还能够产生一些新化合物。这些药用植物包括五味子^[57]、红豆杉^[44,45]、人参^[58]、银杏^[59]、三七^[16]、白芍^[58]等。三七内生菌卵孢木霉 PRE 能产生莽草酸, 对金黄色葡萄球菌 *S. aureus*、蜡样芽胞杆菌 *Bacillus cereus*、黄毛霉 *Mucor luteus* 和大肠杆菌 *E. coli* 都有很好的抑制作用^[60]。三七内生菌棘孢木霉能产生 3 个新的倍半萜类化合物、两个已知的环肽 PF1022F 和盐杆菌素 (halobacillin), 对屎肠球菌 (CGMCC 1.2025) 和金黄色葡萄球菌也有较好的抗菌活性^[61]。三七内生木霉菌拟康宁木霉对三七根腐病菌表现出显著的重寄生潜力, 该菌能产生多种挥发性的活性气体成分, 包括拮抗活性物质 β -水芹烯 (β -Phellandrene)^[16]。三七内生菌盖姆斯木霉 YIM PH30019 能产生二甲基二硫醚、二苯并呋喃、甲硫醇、酮类等多种具有拮抗作用的挥发性活性物质, 以及一系列细胞松弛素类化合物, 包括 3 个结构新颖的 5 环类生物碱 trichoderone A、B 和 Trichodermin^[16]。Wu 等^[58]从白芍中分离出内生木霉菌 PR-35, 从中鉴定出 5 种代谢产物, 分别为环二醇、环二醇氧化物和托比西林、没药烷、菖蒲烷和环己烷, 对金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌和大肠杆菌具有不同程度的抑制作用。青蒿内生菌哈茨木霉 WC-QHY-02-03 能够抑制猕猴桃炭疽病菌、褐腐病菌、猕猴桃软腐病菌等, 其有效成分为发酵液乙酸乙酯提取物的组分 A, 对猕猴桃软腐病菌 HGHM 的 EC_{50} 为 $63.95 \mu\text{g/mL}$ ^[39]。此外, 橡树内生菌橘绿木霉能够拮抗树木溃疡病菌、松枯梢病菌等多种病原菌, 其活性成分为多肽类混合物^[24]。

对内生木霉代谢产物的化学修饰和改造, 是内生木霉菌资源利用的另一种有效途径。如南方红豆杉内生菌紫杉木霉能够产生木霉菌素, 其衍生物对黄瓜灰霉病菌、水稻纹枯病菌、油菜菌核病菌、稻瘟病菌、番茄灰霉病菌、小麦赤霉病菌等多种病原真菌有抑制作用, 有重要的开发利用价值^[44,45]。

3.3 诱导植物抗病性

许多内生真菌被证明参与触发寄主植物的抗病性, 即系统获得性抗性 (SAR) 和诱导系统抗性 (ISR) 来防御病原体^[62]。一些内生木霉通过产生次生代谢产物、直接拮抗病原菌等方式减轻或防治植物病害。有的内生木霉对病原菌没有直接的拮抗作用, 而是通过诱导植物产生抗病性起到防治病害的作用, 如 Martínez-Medina 等^[18]从甜瓜根系中分离出 3 株内生木霉菌, 分别鉴定为加纳木霉 *T. ghanense*、钩状

木霉和哈茨木霉，对尖孢镰刀菌甜瓜专化型 *F. oxysporum* f. sp. *melonis* 不具有体外拮抗活性，但能诱导甜瓜植株中生长素含量增加、细胞分裂素和脱落酸含量减少，从而使甜瓜植株获得了对镰刀菌病害的抗性。

目前，很多内生木霉菌的防病机制还不清楚，如地中海松内生木霉菌，能够有效减少冷杉枯梢病菌引起的坏死斑，但是植物中酚的含量并没有因内生菌的接种而增加。酚是植物防御机制激活的指标，显示该内生木霉菌可能不能激活植物的防御反应^[42]。

4 内生木霉菌与宿主植物互作的分子机制

近年来，关于木霉菌诱导植物抗性机制研究取得明显进展。木霉菌在与植物根系互作过程中产生各种分泌蛋白，主要包括诱导抗性相关的激发子（elicitor）或效应因子（effector）以及防御反应的抑制因子等，如丝氨酸蛋白酶、22 kD 木聚糖酶、几丁质脱乙酰基酶、几丁质酶 Chit42、SnodProt1 蛋白（SnodProt1、Sm1 和 EPI）、脂肽、棒曲霉素类蛋白、无毒基因蛋白等，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，诱导植物叶片防御反应基因表达^[63]。如 Sm1/EPI1 是木霉菌产生的典型激发子，能诱导拟南芥、玉米叶片防御反应基因 PDF1.2、LOX2 和清除活性氧相关基因 SOD、POD 的表达，以及 JA/ET 和 ROS 信号的转导，激发玉米对炭疽病 *Colletotrichum graminicola* 和弯孢菌叶斑病 *Curvularia lunata* 的抗性^[64,65]。

内生木霉菌与宿主植物互作机制的报道较少。Bailey 等^[55,66]报道，可可树及其内生木霉菌在互作过程中，双方的基因表达模式发生改变，进而提高宿主植物的抗逆性、抗病性，并促进植物的生长发育。Bae 等^[56]报道了来自可可树及其近源树种的内生木霉菌与辣椒的互作机制，木霉菌 DIS 259j、DIS 320c 和 DIS 376f 能够诱导辣椒中诱导防御相关基因的表达，卵孢木霉 DIS 70a、DIS 259j 和 DIS 376f 在可可树中的定殖能够推迟辣椒疫霉病的发病时间，DIS 259j 和 DIS 376f 能够诱导辣椒中多种脂质转移酶蛋白（LTP）家族成员的表达，进而诱导辣椒产生对辣椒疫霉的抗性。卵孢木霉 DIS 70a、钩状木霉 DIS 219b、哈茨木霉 DIS 219f 和木霉 DIS 172ai 在可可中定殖后，可诱导可可幼苗中鸟氨酸脱羧酶、EF-钙结合蛋白等 7 种蛋白基因表达，而伸展样蛋白（P12）和主体内在蛋白（P31）的表达受到抑制；同时，内生木霉菌的葡糖基水解酶家族 2，葡糖基水解酶家族 7，丝氨酸蛋白酶和醇氧化酶等基因被诱导表达^[56,65]。Bae 等^[67]报道，干旱可诱导可可叶中多种氨基酸浓度的增加，而 DIS 219b 的定殖导致天冬氨酸和谷氨酸浓度降低，丙氨酸和 d-氨基丁酸浓度增加，从而促进可可根系的生长发育，延迟可可因干旱引起的气孔导度、净光合作用和绿色荧光的变化，提高可可对干旱的耐受性。

5 存在问题与展望

植物内生木霉菌是内生真菌的重要成员，是重要的生防微生物资源，也是活性代谢产物的重要来源，其研究和应用价值日益受到关注。内生木霉菌由于存活在植物的根际和组织间，与植物、病原微生物之间存在复杂的互作关系^[68]，同时其防病效果还与环境条件密切相关，增加了对内生菌防病机制研究的难度。一些文献报道中，将分离自植物根际土壤的木霉菌菌株也笼统地称为内生木霉菌，这些木霉菌可能仅在根际土壤中存活而不是真正的内生木霉菌，因此，它们与宿主植物、根际微生物之间互作机制的研究结论，还有待商榷。因此，尽管有越来越多的研究和报道，内生木霉菌与宿主植物在互作过程中所产生的生物活性物质，其产生、调控机制及功能仍缺乏系统的研究，内生木霉菌改变植物病害严重程度的机制还不清楚。

今后的研究重点应关注以下几个方面：1) 扩大宿主植物范围，加强内生木霉菌的资源挖掘与筛选工作；2) 内生木霉菌次生代谢产物的研究和利用；3) 应用传统的微生物学、植物学技术，结合分子生物学及组学技术，将内生木霉菌诱导植物转录组、蛋白质组、代谢组变化的信息相结合，进行多组学联合分析，研究内生木霉菌诱导植物抗病性的机制；4) 研究内生木霉菌与宿主亲合的机理或其耐受、逃避宿主抗性的机理；5) 将生态进化方法与新出现的分子工具相结合，开展植物内生真菌类群的多样性对植物病害的严重程度的影响；6) 开展内生木霉菌对植物病害的影响与环境的相关性研究。

参 考 文 献

- [1] 刘正琼. 鱼腥草内生真菌分离及其抑菌活性研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2012.
- [2] 文才艺, 吴元华, 田秀玲. 植物内生菌研究进展及其存在的问题[J]. 生态学杂志, 2004, 23(2): 86-91.
- [3] 冯皓. 桉树内生真菌及其次生代谢产物生物活性研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [4] 杨忆. 灰枣果实内生真菌多样性研究及枣缩果病生防菌的筛选[D]. 郑州: 河南农业大学, 2014.
- [5] 易晓华. 除虫菊内生真菌分离、鉴定及其代谢产物抑菌活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008.
- [6] Cummings N J, Ambrose A, Braithwaite M, *et al.* Diversity of root-endophytic *Trichoderma* from Malaysian Borneo[J]. Mycological Progress, 2016, 15(5): 50.
- [7] 秦文韬, 陈凯, 庄文颖. 木霉属 5 个中国新记录种及 2 种木霉在中国的新分布[J]. 菌物学报, 2016, 35(8): 994-1007.
- [8] Benítez T, Rincón A M, Limón M C, *et al.* Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains[J]. International Microbiology, 2004, 7(4): 249-260.
- [9] Bailey B A, Melnick R. The endophytic *Trichoderma*[M]//*Trichoderma: Biology and Applications*, CABI, Wallingford, 2013.
- [10] 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(1): 4-10.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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, 2010, 103(1): 139-151.
- [14] 鲁海菊, 江涛, 胡金碧, 等. 抗枇杷根腐病病菌的内生木霉菌株筛选[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(10): 99-102.
- [15] 夏晓敏. 香蕉内表生木霉的分布、种群结构及对香蕉枯萎病的生防作用研究[J]. 厦门: 厦门大学, 2009.
- [16] Harman G E. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity[J]. New Phytologist, 2011, 189(3): 647-649.
- [17] Yedidia I I, Benhamou N, Chet I I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(3): 1061-1070.
- [18] Taribuka J, Wibowo A, Widayastuti S M. Potency of six isolates of biocontrol agents endophytic *Trichoderma* against fusarium wilt on banana[J]. Journal of Degraded and Mining Lands Management, 2017, 4(2): 723-731.
- [19] Rogério E H, Souza T D J, Pomella A W V, *et al.* *Trichoderma martiale* sp. nov. a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control[J]. Mycological Research, 2008, 112(11): 1335-1343.
- [20] Hanada R E, Pomella A W V, Costa H S, *et al.* Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease[J]. Fungal Biology, 2010, 114(11): 901-910.
- [21] Danielsen S, Jensen D F. Fungal endophytes from stalks of tropical maize and grasses: isolation, identification, and screening for antagonism against *Fusarium verticillioides* in maize stalks[J]. Biocontrol Science and Technology, 1999, 9(4): 545-553.
- [22] Hosseynimoghaddam M S, Soltani J. Bioactivity of endophytic *Trichoderma* fungal species from the plant family Cupressaceae[J]. Annals of Microbiology, 2014, 64(2): 753-761.
- [23] Raghavendra A K H, Newcombe G. The contribution of foliar endophytes to quantitative resistance to *Melampsora rust*[J]. New Phytologist, 2013, 197(3): 909-918.
- [24] Maddau L, Cabras A, Franceschini A, *et al.* Occurrence and characterization of peptaibols from *Trichoderma citrinoviride*, an endophytic fungus of cork oak, using electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Microbiology, 2009, 155(10): 3371-3381.
- [25] Swain H, Adak T, Mukherjee A K, *et al.* Novel *Trichoderma* strains isolated from tree barks as potential biocontrol agents and biofertilizers for direct seeded rice[J]. Microbiological Research, 2018, 214: 83-90.
- [26] Mulaw T B, Druzhinina I S, Kubicek C P, *et al.* Novel endophytic *Trichoderma* spp. isolated from healthy *Coffea arabica* roots are capable of controlling coffee tracheomycosis[J]. Diversity, 2013, 5(4): 750-766.
- [27] Busby P E, Peay K G, Newcombe G. Common foliar fungi of *Populus trichocarpa* modify *Melampsora rust* severity[J]. New Phytologist, 2016, 209(4): 1681-1692.

- [28] 陈金莲. 两株拮抗三七病原真菌木霉的生防应用潜力研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2016.
- [29] Larran S, Simon M R, Moreno M V, *et al.* Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease[J]. *Biological Control*, 2016, 92:17-23.
- [30] Larkin R P, Fravel D R. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato[J]. *Plant Disease*, 1998, 82(3): 1022-1028.
- [31] Elif T, Nasibe T, Recep K. Screening of *Trichoderma Harzianum* Rifai (1969) isolates of domestic plant origin against different fungal plant pathogens for use as biopesticide[J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2018, 27(6): 4232-4238.
- [32] Pandey R R, Arora D K, Dubey R C. Antagonistic interactions between fungal pathogens and phylloplane fungi of guava[J]. *Mycopathologia*, 1993, 124(1): 31-39.
- [33] 石一珺, 申屠旭萍, 俞晓平. 1 株枸骨内生真菌菌株的分类鉴定及其代谢产物的生防作用研究[J]. *植物病理学报*, 2009, 39(4): 362-367.
- [34] 孙勇, 蒋继宏, 张海燕. 植物内生木霉的鉴定及其抑菌活性[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(2): 332-333.
- [35] 王莉衡, 柯杨, 强毅, 等. 芦荟内生菌内生哈茨木霉 LH-7 对植物病原菌的抗性[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(4): 1130-1136.
- [36] 张清华, 连鑫坤, 刘雨菁, 等. 桉树叶片内生真菌多样性及抗桉树焦枯病菌筛选[J]. *森林与环境学报*, 2018, 38(1): 104-110.
- [37] 卢占慧. 人参内生菌群落多样性及拮抗菌株的抑菌作用研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2015.
- [38] 申屠旭萍, 石一珺, 俞晓平. 枸骨内生菌 No.2 的鉴定及其对黄瓜立枯病的生防作用[J]. *农药学学报*, 2010, 12(2): 173-177.
- [39] 何应红. 青蒿内生真菌抗植物病原菌的研究[D]. 贵州: 贵州大学, 2016.
- [40] Holmes K A, Krauss U, Samuels G, *et al.* *Trichoderma ovalisporum*, a novel biocontrol agent of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) of cocoa (*Theobroma cacao*): from discovery to field[M]//Proceedings of the 1st International Conference on Plant-Microbe Interactions: Endophytes and Biocontrol Agents, Saariselkä, Lapland, Finland, 2005.
- [41] Grosch R, Scherwinski K, Lottmann J, *et al.* Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community[J]. *Mycological Research*, 2006, 110(1 2): 1464-1474.
- [42] Romeralo C, Santamaria O, Pando V, *et al.* Fungal endophytes reduce necrosis length produced by *Gremmeniella abietina* in *Pinus halepensis* seedlings[J]. *Biological Control*, 2015, 80: 30-39.
- [43] Narisawa K, Kawamata H, Currah R S, *et al.* Suppression of *Verticillium* wilt in eggplant by some fungal root endophytes[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2002, 108(2): 103-109.
- [44] 程敬丽. 源自内生真菌的倍半萜类新颖高效抑菌化合物的衍生合成与生物活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [45] 王国平, 鲁书玲, 郑必强, 等. 内生真菌紫杉木霉 ZJUF0986 菌株及其活性代谢产物防治水稻纹枯病的效果[J]. *中国生物防治学报*, 2009, 25(1): 30-34.
- [46] 何明静. 植物内生菌绿色木霉(*Trichoderma viride*)对油菜菌核病的生物防治[D]. 成都: 四川农业大学, 2010.
- [47] Andrews J H. Microbial antagonism to the imperfect stage of the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*[J]. *Phytopathology*, 1983, 73(2): 228-234.
- [48] Druzhimina I S, Seidl-Seiboth V, Herrera-Estrella A, *et al.* *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(10): 749-759.
- [49] Reino J L, Guerrero R F, Hernández-Galán R, *et al.* Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2008, 7(1): 89-123.
- [50] Elad Y. Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1996, 102(8): 719-732.
- [51] Hermosa R, Viterbo A, Chet I, *et al.* Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes[J]. *Microbiology*, 2012, 158(1): 17-25.
- [52] 孙青. 基于转录组分析的哈茨木霉 Thga1 基因功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [53] Sunil K D, Shilpa A Verekar, Sarita V B. Endophytic fungi: a reservoir of antibacterials[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 715.
- [54] 郭润芳, 刘晓光, 高克祥, 等. 拮抗木霉菌在生物防治中的应用与研究进展[J]. *中国生物防治学报*, 2002, 18(4): 180-184.
- [55] Sundram S. First report: isolation of endophytic *Trichoderma* from oil palm (*elaeis guineensis* jacq.) and their *in vitro* antagonistic assessment on *Ganoderma boninense*[J]. *Journal of Oil Palm Research*, 2013, 25(253): 368-372.
- [56] 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.
- [57] 黄谦. 狭叶南五味子内生真菌多样性及其发酵研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015.

- [58] Wu S H, Zhao L X, Chen Y W, *et al.* Sesquiterpenoids from the endophytic fungus *Trichoderma* sp. PR-35 of *Paeonia delavayi*[J]. *Chemistry and Biodiversity*, 2011, 8(9): 1717-1723.
- [59] 于洪升. 银杏内生真菌多样性及其活性研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010.
- [60] Dang L, Li G, Yang Z, *et al.* Chemical constituents from the endophytic fungus *Trichoderma ovalisporum* isolated from *Panax notoginseng*[J]. *Annals of Microbiology*, 2010, 60(2): 317-320.
- [61] Ding G, Chen A J, Lan J, *et al.* Sesquiterpenes and cyclopeptides from the endophytic fungus *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. and Nirenberg[J]. *Chemistry and Biodiversity*, 2012, 9: 1205-1212.
- [62] Zeilinger S, Omann M. *Trichoderma* biocontrol: signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism[J]. *Gene Regulation and Systems Biology*, 2007, 1(2): 227-234.
- [63] 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.
- [64] Harman G E, Petzoldt R, Comis A, *et al.* Interaction between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on disease caused by *Pythium ultimum* and *Collectrichum graminicola*[J]. *Phytopathology*, 2004, 94(2): 147-153.
- [65] Chen J, Dou k, Gao Y D, *et al.* Mechanism and application of *Trichoderma* spp. in biological control of corn diseases[J]. *Mycosystema*, 2014, 33(6): 1154-1167.
- [66] Bailey B A, Strem M D, Wood D. *Trichoderma* species form endophytic associations within *Theobroma cacao* trichomes[J]. *Mycological Research*, 2009, 113(12): 1365-1376.
- [67] 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]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(11): 3279-3295.
- [68] Hassani M A, Durán P, Hacquard S. Microbial interactions within the plant holobiont[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 58.