

木霉生防机制及应用的研究进展

孙虎,杨丽荣,全鑫,薛保国,朱自贤,武超

(河南省农作物病虫害防治重点实验室/河南省农业科学院植物保护研究所,郑州 450002)

摘要:木霉菌(*Trichoderma* spp.)是目前生防益菌中研究的热点,其生防机制假说呈现多元化。从竞争作用、重寄生作用、抗生作用、诱导抗性及协同拮抗作用五个方面综述了木霉菌的生防机制,并对其目前的应用现状进行了阐述。

关键词:木霉;生防机制;应用

中图分类号:S476.19

文献标志码:A

论文编号:2010-2192

Research Advances on Mechanism of Biological Control and Application about *Trichoderma* spp.

Sun Hu, Yang Lirong, Quan Xin, Xue Baoguo, Zhu Zixian, Wu Chao

(Key Laboratory of Crop Diseases and Insect Pests Prevention in Henan,

Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agriculture Sciences, Zhengzhou 450002)

Abstract: *Trichoderma* spp. as a hot spot in bio-control fungi research displays multiple hypotheses in its bio-control mechanism. In this paper we concluded *Trichoderma* spp. bio-control mechanism from five aspects and elaborated its current application.

Key words: *Trichoderma* spp.; bio-control mechanism; application

0 引言

木霉属真菌属于半知菌亚门丝孢纲丝孢目丝粘孢菌类,是一类分布广泛的土壤习居菌,除个别为弱病原菌外,大多数对植物病菌均具有拮抗作用^[1]。

1932年,Weindling首次发现木霉菌对一些土传真菌具有拮抗作用,由此引起人们的重视^[2]。目前,已经广泛用于多种植物真菌病害的防治,特别是对立枯丝核菌、镰刀菌、疫霉菌等引起的土传病害具有较好的防治效果^[3]。20世纪70年代以来,国内外对木霉菌的拮抗作用及其机制作了深入研究,并且在温室及田间试验中取得了令人鼓舞的成果。笔者就木霉菌的生防机制和应用等方面研究进展做一概述。

1 木霉菌的生防机制研究

木霉菌对植物病原菌的拮抗作用包含多种机制,主要分为竞争作用、重寄生作用、抗生作用、诱导抗性

及协同拮抗作用。

1.1 竞争作用

竞争作用主要表现为对生存空间和营养的竞争。木霉菌对环境的适应性强,生长速度快,能与病原菌产生营养或空间竞争,并且利用植物表面或侵入点附近低浓度营养物质迅速地占领空间吸收营养,占领病原菌的入侵位点而不为病原菌的入侵留下空隙^[4]。王勇等将分离筛选的绿色木霉 Tr9701 进行了小麦纹枯病菌的抑菌活性检测,结果发现,对峙培养中绿色木霉菌生长迅速,3天后即占据整个培养皿的60%~70%,表现出明显的竞争作用^[5]。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。Sivan等^[6]对哈茨木霉的竞争作用进行了详细研究,通过添加葡萄糖和天门冬酰胺等试验,证明木霉菌的竞争机制在镰刀菌的

基金项目:农业部948引进技术项目“新型微生物农药的引进与产业化开发”(2008-Z22);河南省科技攻关项目“基因工程生防菌的构建与产业化”(082102140011)。

第一作者简介:孙虎,男,1980年出生,河南驻马店人,博士,助理研究员,主要从事微生物农药的开发研究。通信地址:450002 河南郑州河南省农科院植物保护研究所。E-mail: clearshu167@163.com。

通讯作者:薛保国,男,1957年出生,河南驻马店人,哈佛博士后,研究员。主要从事微生物农药开发研究机植物转基因研究。通信地址:450002 河南郑州河南省农科院植物保护研究所。Tel: 0371-65852150, 13613714411, E-mail: xuebbb@gmail.com。

收稿日期:2010-07-16, **修回日期:**2010-10-17。

防治中发挥着重要作用。木霉的强竞争能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,而这种抵抗能力可能与其ABC转座体的存在有关^[7]。

1.2 重寄生作用

重寄生作用是指木霉对另一种微生物识别、接触、缠绕及穿透后抑制或溶解寄主菌丝的现象,是木霉生防机制中最重要的作用之一。Weindling在研究柑橘苗期立枯病时,首次发现木素木霉菌能够寄生于疫霉、腐霉及根霉的某些种上,并且详细描述了木霉对柑橘幼苗的立枯丝核菌菌丝进行缠绕、穿透使其细胞溶解的过程。Barak^[8]证明寄生现象的发生与寄主真菌表面的特定外源凝集素的识别有关。木霉在重寄生过程中产生多种细胞壁降解酶(CWDEs),这些细胞壁降解酶包括几丁质酶、纤维素酶、木聚糖酶、葡聚糖酶和蛋白酶等。已有研究表明内切几丁质酶对病原真菌细胞壁具有强烈的水解作用,从而抑制病原孢子的萌发以及菌丝和孢子的崩溃。另外,外切几丁质酶也具有一定的抗菌活性,当其与内切几丁质酶共同存在时抗菌活性剧烈升高^[9]。木霉几丁质酶对丝核菌、镰刀菌、链格孢、黑粉菌、轮枝菌、腐霉菌、疫霉菌和灰霉菌等植物病原真菌有拮抗作用,能抑制菌丝生长,抑制孢子萌发及芽管的伸长^[10]。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。最近,Djonovic等用缺失突变和过量表达 β -1,6-glucanase *Tv-bgn3*基因的绿色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-葡聚糖酶与绿色木霉的生防功能相关,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^[11]。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^[12]。除了几丁质酶和葡聚糖酶外,蛋白酶也起重要作用。Suarez等^[13]从哈茨木霉中纯化出一种类似胰岛素的蛋白酶,Geremia等^[14]从哈茨木霉菌株中分离鉴定了其中一种碱性蛋白酶,并克隆了相应的基因*prb1*。Elad等^[15]在研究哈茨木霉T39对灰霉病的防治中发现哈茨木霉产生了一种蛋白酶,能降解病原菌的溶解植物细胞壁的酶,这种蛋白酶直接毒害类病原菌的萌发,使病原菌的酶钝化,从而阻止病原菌侵入植物细胞。

1.3 抗生作用

抗生作用是木霉发挥其生物防治作用的重要机制之一。许多木霉在代谢过程中可以产生抑制病原菌的

拮抗性化学物质,如木霉素、胶霉素、绿木霉素、抗菌肽等。能够高效抑制小麦全蚀病菌的哈茨木霉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^[16-17]。朱天辉等研究结果表明,哈茨木霉菌株产生的代谢物质能抑制立枯丝核菌的菌落生长,降低其菌丝干质量,这些代谢物可以破坏菌丝细胞壁,使细胞内物质外渗,引起立枯丝核菌菌丝的原生质凝聚,菌丝断裂解体^[18]。此外,大部分木霉菌株都能够产生peptaibols抗菌肽。peptaibols具有广谱的抑菌活性,对多种植物病原菌均具有抑制作用,还可与细胞壁降解酶协同作用抑制病原真菌的生长^[19]。还有研究表明,一些木霉菌能够产生挥发性代谢物质,可以不同程度地抑制病菌菌落生长,有些抑菌率可以达到80%以上^[20]。

1.4 诱导抗性

关于木霉菌生防机制的早期研究主要集中在微生物间的相互作用,而忽视了寄主植物的参与,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^[21]。郭敏等发现,拟康氏木霉的发酵液产生的胞外多糖及菌丝提取物对番茄和黄瓜的抗病性均有诱导作用^[22]。Avni等^[23]发现哈茨木霉能够诱导烟草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。Yedidia等^[24]观察到哈茨木霉T203菌株诱导黄瓜系统获得性抗性的产生。Ciliento等^[25]检测了具有各种GOX启动子的深绿木霉P1转化子,结果表明,用P1 GOX转化子接种不仅降低了由土壤病原菌引起的病害症状,而且减少了远离木霉菌定殖的应用各种叶部病菌的伤害。因此激活了系统诱导抗病性(ISR)。Viterbo等^[26]研究发现,绿色木霉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引起的细菌性角斑病。黄艳青等^[27]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。

1.5 协同拮抗作用

木霉菌的拮抗作用被认为是多种机制同时或顺序作用的综合。有研究发现,当木霉菌产生的许多胞外酶单独存在时其抗菌作用不显著,但与抗生素同时存在时抗菌活性增强。Di Pietro等^[28]从绿色木霉菌和终极腐霉菌的相互作用的培养物中提取出胶霉毒素,发现每升培养液中增加75 mg几丁质酶可以减少50%的胶霉毒素用量而起到同样的效果。陈方新等^[29]筛选出一株广谱性哈茨木霉HT-1,该菌株在防治多种病害

时,均表现出竞争、寄生及拮抗作用。Jones等提出了胶霉毒素与细胞壁降解酶协同效应模型,认为细胞壁降解酶的作用在于使毒素快速传递并作用于原生质膜的特定位点,起到增效作用。另外,各种细胞壁降解酶之间以及各种拮抗代谢物之间也存在协同作用。

2 木霉菌的应用现状

2.1 生防中的应用

木霉菌具有良好的生防应用前景,并作为一种高效的生防因子广受人们的关注。在温室和田间条件下对一些木霉菌株所进行的防病试验证明,木霉对由灰霉菌、镰刀菌、恶疫酶、腐霉、丝核菌及轮枝菌等引起的多种土传植物病害有效^[2,30-31]。此外,Watanabe等报道^[32]棘孢木霉对许多水稻种传病害有很好的防治效果。一些木霉菌株还能促进植物的生长。近几年国内学者将木霉用于杜仲、人参、三七等中药材病害的生物防治也获得了较好的效果^[33]。目前,国内外已经开发出50多种木霉商品化制剂^[34],如美国的Topshield、以色列的Trichodex、新西兰的木霉制剂Tri-chodry和Trichoflow以及韩国Chung教授研究开发的木霉制剂YC458等等。这些制剂在植物病害防治中都取得很好的防治效果和明显的增产作用^[35-37]。随着可持续农业发展,利用木霉对作物进行生物防治的策略也将得到更加广泛的推广。

2.2 产酶机制的应用

木霉菌可以产生多种酶类,目前应用最广泛的是纤维素酶和几丁质酶。自然界中有机固体废弃物一半以上的成分是纤维素或半纤维素,利用纤维素酶将纤维原料水解成单糖之后,再发酵成酒精或单细胞蛋白,是合理利用可再生资源的一条有效途径。里氏木霉和绿色木霉被认为是最好的纤维素酶产生菌之一,可以产生大量具有生物活性的纤维素酶,对纤维素资源进行生物降解,从而获得大量再生能源。此外,自然界中几丁质资源也十分丰富,是真菌细胞壁以及昆虫和节肢动物甲壳的主要组成部分。木霉几丁质酶不仅能降解病原真菌成熟的菌丝顶端,同时也能降解具有几丁质-葡聚糖复合结构的细胞壁以及菌核,在木霉拮抗机制中起着重要作用。刘梅等^[38]用农杆菌介导法将木霉的几丁质酶基因 $ThEn-42$ 转入粳稻品种台北309中,获得了稳定的转基因植株,30%株系对稻瘟病和水稻纹枯病抗性水平提高,其中一株Tp64表现对稻瘟菌A群和B群2个小种完全免疫。木霉几丁质酶还具有协同增效作用,可以与少量的化学杀菌剂混合,也可以与生防细菌混合,用以防治温室或大田作物病害。Lorito的试验结果表明,在木霉内切几丁质酶的参与下,生防

阴沟杆菌,可附着在灰葡萄孢霉的孢子和菌丝上并大量繁殖,从而增强生防效果。此外,还有其他酶的作用,如葡聚糖酶、纤维素酶、蛋白酶等,利用这些酶与几丁质酶的共同作用,可获得更强、更广泛的抑菌防治效果。

2.3 抗菌物质的应用

据报道,许多木霉可以产生harzianic acid, tricholin, peptaibols, 6-penthy- α -pyrone, massoilactone, viridin, gliovirin, glisoprenins, heptelidic acid等抗菌物质,抑制植物病原菌的生长并发挥其生防作用。如tricholin可导致丝核菌的氨基酸吸收与蛋白质合成障碍,减少多聚核糖体的形成,从而减弱菌丝的生长;gliovirin具有防制腐霉病菌的效果,能强烈地抑制终极腐霉。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。1997年Mannina等^[39]从一株绿色木霉菌的培养滤液中,发现了一种具有抗真菌活性的新四环列双萜分子 $C_{20}H_{28}O_2$ 。Evidente等^[40]在2003年报道了绿色木霉产生的一种新的抗菌素Viridepyronone,在抑菌浓度196 $\mu\text{g/mL}$ 时,对整齐小核菌的抑制率仍在90%以上。哈茨木霉菌产生的壬酸,不仅能抑制孢子萌发,还能抑制菌丝的生长^[41]。此外,刘时轮等^[42]在2009年报道绿色木霉Tv04-2菌株固体发酵代谢产物,可以显著提高人参PAL、CAT及SOD等防御酶活性提高。目前,木霉菌抗菌物质的开发及商品化也正在进行中。

2.4 木霉的遗传改造

功能基因的克隆以及生防益菌的改造,是当下生防菌开发和研究的热点。目前,人们已经成功地克隆了绿色木霉所编码的多种酶的基因^[43]。Beak等^[44]于1999年成功的将几丁质酶基因 $cht42$ 转化到粘帚木霉中,获得了组成性高效表达的菌株COE,使其对棉苗立枯病的生防活性显著增强。Giczey等^[45]改造了哈茨木霉,增加了高度保守的42 kDa内切几丁质酶基因 $Tham-ch$ 的拷贝数,从而提高了木霉的生防效果。Montero-Barrientos等^[46]将热击蛋白基因 $HSP70$ 转化至哈茨木霉T34中,使其高效表达,显著增强了该木霉菌株的抗逆性。Watanabe等^[47]在2004年成功地在绿色木霉中转入大豆皂苷水解酶的相关基因 $sdn1$,并得到了具有生物活性的重组酶。Viterbo等^[48]于2001年从哈茨木霉中克隆了一个新的具有抗菌活性的几丁质酶基因 $chit36$,并将里氏木霉的启动子转入该基因上游,使 $chit36$ 得到高效表达,显著增强了菌株的拮抗效果。随着分子生物学实验技术的迅速发展,利用生物技术对木霉进行基因改造及工程菌的研发已逐渐趋于

成熟。

3 前景与展望

木霉在生物防治和环境保护领域具有重大应用前景,是许多病原微生物的生防因子^[49],也是目前研究最多、应用最广泛的生防益菌^[50]。在对病原微生物的拮抗作用中,可以产生多种拮抗物质及水解酶^[51],同时发挥其竞争作用。此外,木霉可以对环境中的纤维素及几丁质进行生物降解,还有实验表明,木霉在对有机污染的生物修复中具有一定作用^[53]。因此,深入了解木霉对病原微生物的作用机制及应用现状,将有助于木霉菌更加高效的开发及应用^[54]。

随着现代生物技术的广泛运用,木霉的生防机制研究及开发应用将会出现新的发展。例如,木霉本身及其产生的多种拮抗物质和水解酶,均具有协同作用,而且可以和一些杀菌剂、抗生素进行复配,实现优势互补,因此可以开发防效更强,防治范围更加广泛的生防菌剂。此外,木霉菌是产纤维素酶和几丁质酶的优良菌株,通过生物技术手段使纤维素酶和几丁质酶高效表达,可以提高其生防能力;同时,由于几丁质是昆虫及线虫体壁的主要成分,木霉也有望应用于的害虫及植物线虫的防治。另一方面,还可以采用生物发酵的方法对高效表达纤维素酶及几丁质酶的工程木霉进行培养,大量生产纤维素酶及几丁质酶,应用于饲料业、食品工业、酿酒业及生物降解中,在降低生产成本的同时,也符合绿色化学工业的可持续性发展战略。因此,木霉菌必将展现出更加广阔的开发及应用前景。

参考文献

- Howell C R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*. 2003, 87: 4-10.
- Weinding R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*,1932,22:837-845.
- 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.中国生物防治,2002,18(4):180-184.
- 李红叶,曹若彬.果蔬产生病害生物防治研究进展.生物防治通报,1993(4):176-180.
- 王勇,王万立,刘春艳,等.绿色木霉 Tr9701 对多种病原菌的抑制作用及其抑病机理.中国农学通报,2008,24:371-374.
- Sivan A. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology*,1989,79(2):198-203.
- Harman G E, Howell C R, Viterbo A, et al. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review Microbiology*,2004,2:43-56.
- Barak R, Elad Y, Mirelman D, et al. Lectins: A possible basis for specific recognition in the interaction of *Trichoderma* and *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*,1985,75:458-462.
- Bolar J P, Norelli J L, Harman G E, et al. Synergistic activity of endochitinase and exochitinase from *Trichoderma atroviride* (*T. harzianum*) against the pathogenic fungus (*Venturia inaequalis*) in transgenic apple plants. *Transgenic Research*,2001,10:533-543.
- 刘霞,王燕,安磊,等.木霉几丁质酶应用研究进展.饲料工业,2008,29(14):58-60.
- Djonovic S, Pozo M J, Kenerley C M. Tvbn3, a {beta}-1, 6-Glucanase from the Biocontrol Fungus *Trichoderma virens*, is Involved in Mycoparasitism and Control of *Pythium ultimum*. *Applied and Environmental Microbiology*,2006,60:4364-4370.
- El-Katatny M H, Gudelj M, Robra K H, et al. Characterization of a chitinase and an endo-β-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. *Applied Microbiology and Biotechnology*,2001, 56:137-143.
- Suarez B, Rey M, Castillo P, et al. Isolation and characterization of *PRA1*, a trypsin-like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematocidal activity. *Apply Microbiology Biotechnology*,2004,65:46-55.
- Geremia R A, Goldman G H, Jacobs D, et al. Molecular characterization of the proteinase-encoding gene, *prb1*, related to mycoparasitism by *Trichoderma harzianum*. *Molecular Microbiology*,1993,8(3):603-613.
- Elad Y, Kapat A. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 1999,105:177-189.
- Serrano-Carreón L, Flores C, Rodríguez B, et al. *Rhizoctonia solani*, an elicitor of 6-pentyl-α-pyrone production by *Trichoderma harzianum* in a two liquid phases, extractive fermentation system. *Biotechnology Letters*,2004,26(18):1403-1406.
- Vinale F, Marra R, Scala F, et al. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*,2006,43 (2):143-148
- 朱天辉,邱德勋.哈茨木霉对立枯丝核菌的抗生现象.四川农业大学学报,1994,12(1):11-15.
- 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. *Applied and Environmental Microbiology*,1994,60:4364-4370.
- 高克祥,刘晓光,郭润芳,等.木霉菌对杨树树皮溃疡病菌拮抗作用的研究.林业科学,2001,37(5):11-15.
- Harman G E, Howell C R, Viterbo A, et al. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*,2004,2:43-56.
- 郭敏,陈靠山.拟康氏木霉产胞外多糖发酵培养基及培养条件的研究.中国农学通报,2006,22:58-61.
- Avni A, Bailey B A, Mattoo A K, et al. Induction of Ethylene Biosynthesis in *Nicotiana tabacum* by a *Trichoderma viride* Xylanase Is Correlated to the Accumulation of

- 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid (ACC) Synthase and ACC Oxidase Transcripts. *Plant Physiology*,1994,106(3):1049-1055.
- [24] Yedidia I, Benhamou N, Chet I. Induction of defense responses in cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999,65(3):1061-1070.
- [25] Ciliento R, Woo S L, Di Benedetto P, et al. Genetic improvement of *Trichoderma* ability to induce systemic resistance. *Journal of Zhejiang University (Agric & Life Sci)*,2004,30(4):423-423.
- [26] Viterbo A, Harel M, Horwitz B A, et al. *Trichoderma* Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Is Involved in Induction of Plant Systemic Resistance. *Applied and Environmental Microbiology*,2005,71:6241-6246
- [27] 黄艳青,庄敬华,高增贵,等.木霉菌诱导甜瓜抗枯萎病相关防御反应酶系的研究.沈阳农业大学学报,2005,36:546-549.
- [28] Di Pietro A, Lorito M, Hayes C K, et al. Endochitinase from *GUocladium virens*: Isolation, Characterization, and Synergistic Antifungal Activity in Combination with Cliotoxin. *Phytopathology*, 1993,83:308-313.
- [29] 陈方新,齐永霞,戴庆怀,等.哈茨木霉对几种植物病原真菌的拮抗作用及其抗药性测定.中国农学通报,2005,21:314-317.
- [30] 胡仕凤,高必达,陈捷.木霉几丁质酶及其基因的研究进展.中国生物防治,2008,24:369-375.
- [31] 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. *Mycological Research*,2006,110:1464-1474.
- [32] Watanabe S, Kato H, Kumakura K, et al. Properties and biological control activities of aerial and submerged spores in *Trichoderma asperellum* SKT-1. *Journal of Pesticide Science*,2006,31: 375-379.
- [33] Ding W L, Cheng H Z, Chen J. Presearch on preventing the medicinal plant diseases with *Trichoderma harzianum* preparation. *China Journal of Chinese Materia Medica*,2003,28:24-27.
- [34] Woo S L, Scala F, Ruocco M, et al. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., Phytopathogenic fungi and Plants[J]. *Phytopathology*,2006,96:181-185.
- [35] Harman G E. Myths and Dogmas of Biocontrol changes in perceptions derived from Reserch on *Trichoderma harzianum* T-22. 2000,84(4):377-393.
- [36] Zimand G, Elad Y, Chet I. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. *Phytopathology*,1996,86(11): 1255-1260.
- [37] 李增智.菌物在害虫、植病和杂草治理中的现状和未来.中国生物防治,1999,15(1):35-40.
- [38] 刘梅,覃宏涛,孙宗修,等.转基因水稻中ThEn-42基因的稳定遗传及其抗病性的提高.农业生物技术学报,2003,11:444-449.
- [39] Mannina L, Segre A L, Ritieni A, et al. A new fungal growth inhibitor from *Trichoderma viride*. *Tetrahedron*,1997,53(9): 3135-3144
- [40] Evidente A, Cabras A, Maddau L, et al. Viridepyronone, a new antifungal 6-substituted 2H-pyran-2-one produced by *Trichoderma viride*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2003,51(24): 6957-6960.
- [41] Aneja M, Gianfagna T J, Hebbar P K. *Trichoderma harzianum* produces nonanoic acid, an inhibitor of spore germination and mycelial growth of two cacao pathogens *Physiological and Molecular Plant Pathology*,2005,67:304-307.
- [42] 刘时轮,李勇,傅俊范,等.绿色木霉Tv04-2菌株固体发酵物对人参防御酶活性的影响.中国农学通报,2009,25(03):63-65.
- [43] 葛文中,李楠.绿色木霉应用的研究进展.黑龙江八一农垦大学学报,2005,17:75-80.
- [44] Baek J M, Howell C R, Kenerley C M. The role of an extracellular chitinase from *Trichoderma virens* Gv29-8 in the biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Current Genetics*,1999,35(1):41-50.
- [45] Giczey G, Kerényla Z, Dallmanna G, et al. Homologous transformation of *Trichoderma hamatum* with an endochitinase encoding gene, resulting in increased levels of chitinase activity. *FEMS Microbiology Letters*,1998,165:247-252.
- [46] Montero-Barrientos M, Hermosa R, et al. Overexpression of a *Trichoderma HSP70* gene increases fungal resistance to heat and other abiotic stresses. *Fungal Genetics and Biology*,2008,45: 1506-1513.
- [47] Watanabe M, Sumida N, Yanai K, et al. A Novel Saponin Hydrolase from *Neocosmospora vasinfecta* var. *vasinfecta*. *Applied and Environmental Microbiology*,2004,70(2):865-872.
- [48] Viterbo A, Haran S, Friesem D, et al. Antifungal activity of a novel endochitinase gene (*chit36*) from *Trichoderma harzianum* Rifai TM. *FEMS Microbiology Letter*, 2001,200:169-174.
- [49] Rojo F G, Reynose M M, Ferez M, et al. Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions. *Crop Protection*,2007,26:549-555.
- [50] Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti E L, et al. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*,2008,40:1-10.
- [51] Elad Y. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection*,2000,19:709-714.
- [52] Kuć J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology*, 2001,107:7-12.
- [53] Smith W H. Forest occurrence of *Trichoderma* species: emphasis on potential organochlorine (Xenobiotic) degradation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*,1995,32(2):179-183.
- [54] Yang H H, Yang S L, Peng K C, et al. Induced proteome of *Trichoderma harzianum* by *Botrytis cinerea*. *Mycological research*, 2009,113:924-932.