西北农业学报 2003,12(3):96～99
Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica

木霉在植物真菌病害防治上的作用

惠有为,孙 勇,潘亚妮,赵亚玲
(西北大学化工学院生物工程系,西安 710069)

摘 要:木霉菌是重要的植物真菌病原菌的抑制菌,广泛分布于自然界。该菌具有较强的适应性,通过营养争夺、重寄生、产生抗性物质或溶解酶类抑制许多病原菌;木霉的几丁质酶基因可在细菌、真菌和植物上表现,利用基因工程技术可获取抗病品种。因此,深入研究、开发和生产优良木霉菌,对于防治植物真菌病害,促进农业生产具有重要意义。本文综述了木霉菌形态特征及种类、拮抗机制、培养条件和病原菌防治,分析了在生物防治上的优势和研究中存在的问题。

关键词:木霉;真菌病害;拮抗机制
中图分类号:S432.4+4 **文献标识码**:A **文章编号**:1004-1389(2003)03-0096-04

The Antagonism of *Trichoderma* against the Phytopathogenic Fungi

XI You-wei,SUN Yong,PAN Ya-ni,ZHAO Ya-ling
(Northwest University ,Xi'an 710069,China)

Abstract:*Trichoderma* is an important group in the biological control of phytopathogenic fungi and is ubiquitous in the environment. They have excellent adaptability,boroad spectrum of activity and diversified mechanisms including competition,mycoparasitism,antibody-secretion and cell lysis. Because the chitinase genes can express on the germs,fungi and plants,we can make use of the genetic engineering technique to obtain the anti-disease species. Therefore,it is very important in the plant disease control and agricultural production that we further research,develop and produce good species about *Trichoderma*. This report summarized the character and species of *Trichoderma*,antagonistic mechanism,culture conditions and control of pathogen. Its advantage in the biological control and the problem in the research were analysed.

Key words: *Trichoderma*; Phytopathogenic fungi; Antagonism

木霉(*Trichoderma* spp)属于半知菌亚门丝孢纲丝孢目粘胞菌类,是一类分布广泛的土壤习居菌,常见于植物残体及动物粪便上。除个别为弱病原菌外,大多数对植物病菌具有拮抗作用。由于木霉广泛适应性、产生拮抗物的多样性和寄生的广谱性,作为植物病害生物防治的拮抗菌被研究。现就拮抗木霉的国内外研究,从4个方面给予简要论述。

1 形态及种类

Rifai 根据 *Hypocrea* 属的分生孢子阶段将木霉分为9群,随后 Bissett 将木霉分为5组[1],Sivasithamparam 在他的著作中记载有33种[2],目前用于生物防治研究的木霉菌有8种,即哈茨木霉(*T. harzinum*)、钩状木霉(*T. hamatum*)、长枝木霉(*T. longibrachiatum*)、康氏木霉(*T. koningii*)、绿色木霉(*T. viride*)、绿粘帚霉(*Gliocladium virens*)、多孢木霉(*T. polysporum*)、*T. asperellum*,其中哈茨木霉和绿色木霉已有生产制剂。

木霉菌 PDA 培养菌落初为棉絮状或致密丛束状,颜色为白色至灰白色,无固定形状[3]。当分生孢子成熟后,菌落自中央到边缘,渐渐变为不同程度的绿色菌落,极少数为白色粉状。分生孢子梗从菌丝的侧枝生出,直立分枝,小枝常对生,顶端

收稿日期:2002-09-06 修回日期:2003-01-25
基金项目:陕西省科技攻关项目(2001K02-G7)。
作者简介:惠有为,硕士,副教授,从事生物农药研究工作。

不膨大,上生分生孢子团。分生孢子球形,浅色或无色[4]。

2 拮抗作用

大量研究资料证明一种木霉菌具有多种拮抗作用,归结起来共有 4 种形式。

2.1 竞争作用

木霉菌腐生性强、适应性广、生长和繁殖快,可迅速利用营养和占据空间,在抑制病原真菌过程中起重要作用。Sivan 等对哈茨木霉营养争夺进行研究,通过添加葡萄糖和天门冬酰胺等证明木霉菌抑制镰刀菌生长和繁殖[5]。Danielson 用对峙法将绿色木霉与病原真菌点接在相对平板边缘,28℃,培养 3～5 d,平板上可以清晰地观察到绿色木霉的生长速度明显高于病原真菌,同时木霉菌还可在病原真菌的菌落上生长,致使其消解[6]。薛宝娣等实验证明木霉菌对立枯丝核菌、腐霉菌、疫霉菌等有抑制作用。当木霉菌与立枯丝核菌同在一平皿培养基时,木霉迅速生长,占据了绝大多数培养基表面,并能在长有立枯丝核菌落上继续生长,覆盖整个菌落,并观察到立枯丝核菌消解,隔膜断裂现象[7]。王未名等通过木霉对 6 种土传病菌抑菌研究证明木霉抑制病原真菌强弱不同,依次为立枯丝核菌、大丽轮枝菌、棉萎焉镰刀菌和茄腐皮镰刀菌[8]。上述研究表明木霉对病原真菌可通过营养和空间争夺,实现抑菌的效果。

2.2 重寄生现象

木霉菌可以寄生于立枯丝核菌、腐霉菌、疫霉菌、霜霉菌等约 18 个属,29 个种[9]。王革、薛宝娣等利用木霉菌和病原菌进行对峙培养,当两菌落边缘汇合时,显微镜下观察发现木霉菌丝缠绕附着于病菌上,产生圆形或指状的吸器吸取病原菌的营养,使病原菌丝消解或断裂[7,10]。Golam 用 15 种木霉菌对香蕉病原菌抗病性测定中发现哈茨木霉菌和绿色木霉菌寄生性最强。它们直接侵入或缠绕在菌丝上,引起病原菌细胞膨大、变形、缩短或变圆,原生质收缩,细胞壁破裂[11]。

2.3 产生抗菌类物质

木霉能产生一系列具有抗菌活性的次级代谢产物,仅抗真菌的代谢物在 70 种以上[2]。已鉴定的抗菌物质结构差异很大,包括:烷基吡喃酮,丁烯羟酸内酯、环硫氧化哌,嗪,吡啶类,萜类和肽类化合物。这些抗生素根据其性质的不同,可以大致分成 3 类:(1)具有显著挥发性的抗生素,产生这类抗生素的木霉被认为具有显著的生态优势;(2)具有水溶性的抗生素如一些萜类化合物;(3)肽类化合物,具有离子载体活性[13]。每种菌可产生多种,其中哈茨木霉和绿色木霉菌居多,其次为康氏木霉菌[14,15]。木霉抗菌物质多样性可降低病菌的抗药性。

2.4 产生细胞壁溶解酶类

木霉产生各种细胞壁溶解酶是重要的拮抗机制。研究证实木霉在寄主诱导下进行趋向生长,并在接触、缠绕和穿透过程中分泌各种降解酶,如纤维素酶(cellulases)、葡聚糖酶(glucanases)、木糖酶(rylanases)和几丁质酶(chitinases)[2]。

近几年来对哈茨木霉几丁质酶研究最为深入。木霉几丁质酶可分为 3 种:外切 4-N 已酰葡糖胺酶(4-N-acelylhexosaminidase)、几丁二糖酶(chilobiosidase)、内切几丁质酶(endochilinase)[16,17]。一个菌种可产多种几丁质酶,用几丁质和植物病原真菌胞壁作为碳源,可诱导木霉产生大量几丁质酶,葡萄糖、蔗糖或已酰葡萄糖胺可抑制这种诱导[18]。几丁质酶具有广谱性抑制作用,可抑制孢子萌发和菌丝生长,使胞壁破裂,其与类似酶或杀菌剂混合使用具有协同增效作用[19]。

3 发酵生产

自从木霉的生防效果得到广泛认可以来,关于木霉菌培养和发酵生产等方面有大量报道。

3.1 营养条件

木霉可在各种碳源和氮源下生长,同时可转化和降解一些有害或持久有害的环境污染物。木霉可直接利用各种单糖、单糖的衍生物、有机酸类[21];有显著的降解各种多糖(纤维素、半纤维素)和相关的多聚糖(几丁质);还可转化和降解一些农药,如:马拉硫磷、茅草枯、五氯硝基苯等[20～22]。木霉可利用复杂和简单的氮,水解酪蛋白氨基酸混合液最好,天门冬氨基酸、丙氨酸、谷氨酸为最佳[23]。木霉的最适的 C : N 为 15 : 1[24]。木霉是需氧菌,适合的氧压有利于菌丝的生长和孢子产生;最佳 pH=4.0～6.5; 温度因种而不同,大多数为 20～25℃,个别为 35～40℃或小于 5℃[25]。

3.2 固体发酵

Lewis 和 Papavizas 等研究了木霉在各种固体培养基上产生孢子量。石英砂加松锯末、可可壳粉、咖啡壳粉、花生壳粉、玉米芯或麦麸皮等为原料,研究表明麦麸皮的效果最好,玉米粉和花生壳

粉在刺激木霉产生孢子方面与麦麸皮的效果是相同的[26]。朱辉等利用城市垃圾加30%麸皮，接种量30%，8～10 d，孢子量10^9/g[27]。本实验室用麸皮和苹果渣混合发酵，生物量为10^9～10^{12}个孢子/g，苹果渣既可以提供营养也利于通气。

3.3 液体培养

陈碧云等利用13种培养液培养绿色木霉，过滤液对油菜菌核病生物测定，结果表明OTF液效果最好(葡萄糖20 g，酒石酸2 g，微量无机盐类)[28]。Papavizas等使用糖密一酵母粉培养液在20 L发酵罐、28℃、200～350 r/min、3 d，孢子含量可达到10^{10}个/g干重[29]。以棉籽粉或玉米浆代替啤酒酵母也可以产生理想效果。而Jackson和Whips发现在丙氨酸一葡萄糖培养产生的菌丝干重比糖密一酵母培养生物量要高[30]。国内在木霉液体培养以获得高的生物量方面目前文献比较少。

4 防治效果

木霉可抑制多种植物真菌病，至目前报道约29种菌，研究最多的是灰霉菌、腐霉菌、丝核菌、炭阻菌、镰刀菌。国内近几年利用木霉在许多病害上做了大量试验，防治效果明显。丁万隆等(1994)将木霉孢子粉按10，15，20 g/m^2，与适量细土混匀，放入0～5 cm土层防治西洋参立枯病，防治效果在60%以上，优于常用农药[31]。茆振川等对染有轮纹病菌的苹果枝条打孔，注射入孢子液，结果证明木霉菌抑制苹果轮纹病是可行的[32]。马辉刚等利用木霉对大田和大棚番茄灰霉进行药效实验，用16×10^8孢子/g水分散微粒剂，稀释300～700倍，防治效果可达75%～85%，与灰克1 500倍防效78.08%比较效果相当[33]。由此可见，木霉拌土，拌种，注射及喷洒对病原真菌有明显的防治效果。

综上所述，木霉作为生防菌具有如下优势：第一，腐生性强，适应范围广，产孢量大，易于工业化生产；第二，寄生范围广，一药多用，降低防治成本，易于被农户接受；第三，寄生同时可产生各种抗生物和溶解酶，降低病原的抗药性，加强抑菌强度；第四，木霉的几丁质酶基因可在细菌、真菌和植物上表现，利用基因工程技术获取抗病品种。因此，深入研究、开发和生产优良木霉菌，对于防治植物真菌病害，促进农业生产具有重要意义。

但在木霉的研究和开发中还存在许多问题。木霉制剂在北方大棚和果库储藏使用效果不佳，其原因是温度低，不利于孢子的萌发和菌丝的生长，还需选育低温菌种；木霉产生抗生物对人和动物有无副作用；笔者在研究中发现将孢子粉撒于土下3～5 cm处，促进植物生长，其原因尚不完全清楚等，还有待进一步研究。

参考文献：

[1] Bissett T. A revision of the genus *Trichoderma* I: longibrachiatum sect nov [J]. Can J Bot., 1984, 62:924～932.

[2] Sivasithamparam K, Ghisalbert E J. Scondary metabolism in *Trichoderma* and Gliocladium [A]. *Tricoderma* and Gliocladium, Vol I: Basic biology taxonomy and genetics [C]. London, Taylor & Francis Ltd, 1998. 139～190.

[3] 鄢永琦，张素琴. 绿色木霉菌产生纤维素酶的研究[J]. 应用与环境生物学报，2000，21(10)：24～25.

[4] 邵力平，沈瑞祥，张素轩，等. 真菌分类学[M]. 北京：中国林业出版社，1983. 315.

[5] Sivan A. The possible role of competition between *Trichoderma harzinum* and *Fusarium oxysporun* on rhizosphere colonization [J]. Phytopathology, 1989, 79(2): 198～203.

[6] Danielson R M. Carbon and Nitrogen in Trichoderma [J]. Soil Biol Biochem, 1998 5:508～516.

[7] 薛宝娣，李 娟，陈永萱. 木霉菌(TR-5)对病原真菌的拮抗机制和防病效果研究[J]. 南京农业大学学报，1995，18(1)：31～36.

[8] 王未名，陈建爱，孙永堂. 六种土传病原真菌被木霉抑制作用机理的初步研究[J]. 中国生物防治，1999，15(3)：142～143.

[9] 扬合同，唐文华. 木霉菌与植物病害的生物防治[J]. 山东科学，1999，12(4)：7～14.

[10] 王 革，周晓罡，方敦煌，等. 木霉拮抗烟草赤星病菌菌株的筛选及其生防机制[J]. 云南农业大学学报，2000，15(3)：216～218.

[11] Golam M. Potentiol for biocontrol of *Lasiodiplodia theobrommae* in banana fruits by Trichoderma species [J]. Biological Control, 1999, 15, 235～240.

[12] Labudova I, Gogorova L. Biological control of phytopathogenic fungi through lutic action of *Trichoderma* species FEMS, Microbiology letters, 1988, 52:193～198.

[13] Jong-Min, Baek, Charles R, *et al*. The role of extracellular chitinase from *Trichoderma virens* Gv29-8 in the biocontrol of *Rhizoctonia solani* [J], Current Genetics, 1999, 35 (1):41～43.

[14] Chisalbett E L. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp [J]. Soil Biology & Biochem, 1991, 23 (11): 1011～1020.

[15] Chisalbett E L. Antifungal metabolite from *Trichoderma harzianum* [J]. J. Natural Products, 1993, 56(10): 1769～1804.

[16] Dal Soglio F K, Bertagnelli B L. Production of chitinolytic enzymes and endoglucanase in the soybean rhizosphere in the presence of *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*[J] Biologial Control, 1998, 12,111～117.

[17] Srinivasam U, Staines H J. Chitinase and laminarinase production in liquid culture by *Trichoderma* spp and their role in biocontrol of wood decay fungi[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 1995, 337～353.

[18] 吴锦斌,夏黎明. 绿色木霉合成几丁质酶条件的研究[J]. 化学反应工程与工艺, 1999, 15(2):119～125.

[19] Harman G E,Latorre B. Biological and integrated control of Botrytis bunch rot of grape using *Trichoderma* spp[J]. Biological Control, 1996, 7, 259～266.

[20] Marczinger L, Poller G. Cluster analysis of carbon source utilization patterns of *Trichoderma isolates* [J]. System Appl. Microbiol, 1985,9,214～217.

[21] Kubicek C P. Cellulase for mation by species of *Trichoderuma sect longibrachiatum* and of Hypocrea spp with anamorphs referable to *Trichoderuma serct*. Longibrachiatum[J]. Fung Bill Genet, 1996 ,70:105～114.

[22] Katayaing A, Matsumura F, Degradation of organochlorine pesticides particularly endosulfan by *Trichoderma harzianum*[J]. Enriron Toxicol Chem, 1993, 12:1059～1065.

[23] Danielson R M, Davey C B. Carbon and nitrogen nutrition in *Trichoderuma* [J], Soil Biol. Biochem, 1973, 5:506～515.

[24] Jackon A M, Wipps T M, Lynch J M. Nutritional studies of four fungi with disease biocontrol potential [J]. Enzyme Microb Technol, 1991,13:456～461.

[25] Lejeune R, Nielsin J,Baron G V. Influence of PH in morphology of *Trichoderuma reesei* in submerged culture [J]. Biotechnol Lett, 1995, 17:341～344.

[26] Lewis J A, Papa G C. Production of chlamydospores and conidia by *Trichoderma* spp, in liquid and solid growth media [J]. Soil Biol Biochem. 1983, 15:351～357.

[27] 朱　辉,娄沂春. 利用城市垃圾发酵生产绿色木霉[J]. 微生物通报,1999,26(6): 387～390.

[28] 陈碧云,周乐聪,陆致平. 绿色木霉发酵配方与防治油菜菌核病的研究[J]. 中国生物防治,2001,17(2):67～70.

[29] Papavizas G C,Dunn T, Lewis J A. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi [J]. Phytophology, 1984, 74: 1171～1175.

[30] Jackson A M, Whipps J M, Lynch J M. Nutritional studies of four fungi with disease biocontrol potential [J]. Enzyme Microb Technol , 1991, 13:456～461.

[31] 丁万隆,程惠珍,张国珍. 木霉素防治西洋参立枯病研究[J]. 中草药,1994,25(2):91～ 92.

[32] 茆振川,侯桂凤. 木霉菌对苹果枝条的轮纹病菌的抑制作用[J]. 落叶果树,1999,(3): 6～7.

[33] 马辉刚,李瑞明,胡水秀. 木霉素防治番茄灰霉病田间药效试验[J]. 植物保护,1998,24(2):38～39.

(上接第 88 页)

[2] Rosenkranze E. New host and taxonomic analysis of the Mississippi native species tested for reaction to maize dwarf mosaic and sugarcane mosaic virus[J]. Phytopathol, 1987,77:598～607.

[3] Shepherd R J. Properties of a mosaic virus of corn and johnsongrass and its relation to the sugarcane mosaic virus [J]. Phytopathol,1965,55:1250～1256.

[4] Williams L E,Elexander L I. Maize dwarf mosaic a new corn disease[J]. Phytopathol,1965,55:1083—1084.

[5] 高永良. 玉米矮花叶病毒的调查与防治[J]. 陕西农业科学, 1994,(3):40～42.

[6] 史春霖,徐绍华. 北京玉米和高粱上的玉米矮花叶病毒[J]. 植物病理学报,1979,12(2):113～116.

[7] 陈　刚,周广和,陈剑波. 玉米矮花叶病毒提纯及特性的研究[J]. 中国病毒学,1992,7(1):93～97.

[8] 陶正平,朱福成. 玉米矮花叶病毒提纯及抗血清制备[J]. 甘肃农业科技,1990(5):25～27.

[9] Gordon D T. Purification of maize dwarf mosaic virus by continuous flow centrifugation[J]. Phytopathol,1973,63: 1386～1392.

[10] Langenberg W O. Serology, physical, properties, and purification of unaggregated infectious maize dwarf mosaic virus[J]. Phytopathol,1973,63:149～154.