

木霉属中国新记录种 *Trichoderma koningiopsis* 记述

李广记 陈捷 刘铜 刘力行*

(上海交通大学农业与生物学院 上海 200240)

摘 要: 在华东地区木霉菌资源调查中, 利用内转录间隔区(ITS)序列分析和形态学鉴定方法, 对从土壤中分离到的木霉菌进行鉴定, 发现一个中国新纪录种, 即拟康宁木霉。 *Trichoderma koningiopsis*/*Hypocrea koningiopsis* Samuels, C. Suarez & H.C. Evans sp. nov.。该种典型的形态特征是在 PDA 以及 CMD (玉米粉琼脂)上有瓶梗层出现象, 而在 MA (麦芽提取物)培养基上没有此特征。
关键词: 木霉属, 生防, 拟康宁木霉

Trichoderma koningiopsis: A New Chinese Record of the Genus *Trichoderma*

LI Guang-Ji CHEN Jie LIU Tong LIU Li-Xing*

(School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: We found a new Chinese record of the genus *Trichoderma* using the method of ITS and morphology from the east China. The species is *Trichoderma koningiopsis*/*Hypocrea koningiopsis* Samuels, C. Suarez & H.C. Evans sp. nov.. Percurrently proliferating phialides is the typical morphology of this species on PDA and CMD, while it doesn't exist on MA.

Keywords: Genus *Trichoderma*, Biocontrol, *Trichoderma koningiopsis*

木霉属 *Trichoderma* Pers. 真菌属于半知菌亚门 Deuteromycotina、丝孢纲 Hyphomycetes、丝孢目 Hyphomycetales 的粘孢菌类 Gloiosporae。现已证实其有性世代为子囊菌亚门 Ascomycotina、肉座目 Hypocreales、肉座科 Hypocreaceae 的肉座菌属 *Hypocrea*。众所周知: 木霉菌在工业、农业、环境保护等领域有着广泛的应用价值^[1], 尤其在农业领域, 国际上已有 50 余种木霉菌生物防治制剂或菌肥产品获得登记和商业化生产^[2], 在农业生产中发挥

了重要作用。由于木霉菌分布广泛、应用领域多、经济价值高, 因此不断挖掘新的木霉菌自然资源具有重要的意义。

目前, 国际上已记录的木霉菌共有 104 种, 其中包括已发现其肉座菌有性世代的有 34 种 (<http://www.isth.info/>)。在中国发现并已报道的木霉菌有 20 余种。文成敬等^[3]于四川、云南、西藏共分分离鉴定了 5 种木霉, 章初龙和徐同^[4]报道了来源于河北、浙江、云南、西藏的 4 个中国新记录种, 孙

军等^[5]报道了来自辽宁的一个中国新记录种。本研究在华东地区木霉菌资源调查中,利用内转录间隔区(ITS)序列分析和形态学鉴定方法,对从土壤中分离到的木霉菌进行鉴定,发现一个中国新记录种,即拟康宁木霉 *Trichoderma koningiopsis*/*Hypocrea koningiopsis* Samuels, C. Suarez & H.C. Evans sp. nov.。该种属于 Section *Trichoderma*^[6-8]中的 Clade *Viride* 进化枝,在热带美洲分布较普遍,此外在东非、欧洲和加拿大以及北美东部也有报道^[9]。

拟康宁木霉 中国新记录种

图 1

Trichoderma koningiopsis/*Hypocrea koningiopsis* Samuels, C. Suarez & H.C. Evans sp. nov., *Stud Mycol* 56: 67, 2006

该菌株(JA14)分离自江西吉安天玉镇黄瓜种植地。在 PDA 培养基上,气生菌丝茂盛,菌落无明显的环境出现,产孢区最终覆盖整个平板,30°C 培养 72 h 直径达 13.2 cm。在 MA (麦芽汁琼脂)培养基上,靠近菌落边缘的部分可见白色分生孢子簇。分生孢子簇排列致密,不产生扩散性色素,没有明显气味。分生孢子梗直接产生瓶梗或产生二级分枝,二级分枝倾向于对生,和主轴夹角略小于 90°,距离顶端距离越大分枝越长。分生孢子梗主轴宽度约 3 μm 。可育分枝的顶端为 2-5 个涡状排列的瓶梗。在 PDA 上可观察到瓶梗层出现现象。瓶梗直或弯曲,窄烧瓶形或中部明显膨大,间生瓶梗不常见。瓶梗大小(5-9) $\mu\text{m} \times (2.2-4) \mu\text{m}$,长宽比 1.3 μm -3.3 μm 。分生孢子椭圆形,深绿色,壁光滑。直径大小(4-6) $\mu\text{m} \times (3.2-4) \mu\text{m}$,长宽比 1.3-1.5。

为了进一步鉴定该菌株种类,本研究采取 ITS 鉴定的方法,分析该菌株 ITS 序列与形态类似的木霉菌的 ITS 的相似度。结果表明:该菌株 ITS 序列长度为 586 bp (GenBank 登录号 HM150619),经 NCBI BLASTn 比对后发现该菌株与已知种 *Trichoderma koningiopsis* strain DAOM 233971 (GenBank 登录号 EU280131.1)、*Trichoderma ovalisporum* (GenBank 登录号 EU280118.1) 和 *Trichoderma koningii* (GenBank 登录号 AF456923.1) 的相似度均高达 99%,而且仅与 *Trichoderma koningiopsis* strain DAOM 233971 仅相差一个碱基,系统进化树(图 2)表明其遗传距离和 *T. koningii*、*T. atroviride*、*T. viride* 及 *H. viridescens* 比较接近。进一步比较表明:*Trichoderma ovalisporum* 没有瓶梗层

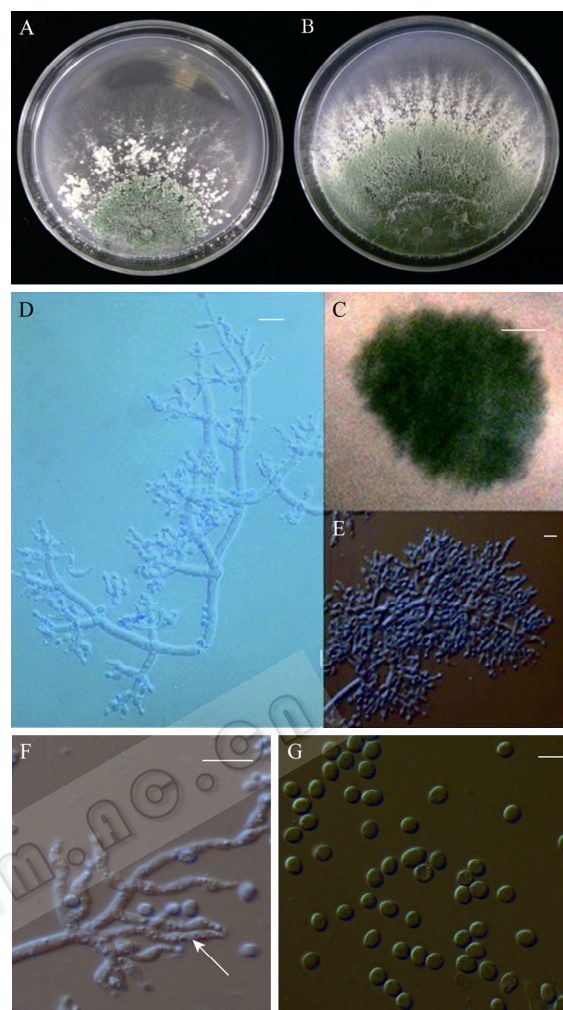


图 1 拟康宁木霉

Fig. 1 *Trichoderma koningiopsis*

注: A: MA 上的菌落形态; B: PDA 上的菌落形态; C: MA 上培养的产孢簇; D: MA 上的分生孢子梗; E-F: PDA 上分生孢子梗和层生瓶梗(图中箭头所指); G: 分生孢子。标尺: C = 0.5 mm; D-F = 10 μm ; G = 5 μm 。

Note: A: Colony on MA; B: Colony on PDA; C: Compact conidiogenous pustules; D: Conidiophores on MA; E-F: Conidiophores on PDA. G: Conidia. Bars: C = 0.5 mm; D-F = 10 μm ; G = 5 μm .

出现现象;*Trichoderma koningii* 生长速度较 *T. koningiopsis* 慢,在 PDA 上 30°C 72 h 菌落生长 6.6 cm-10.4 cm,分生孢子的长宽比为 1.6-1.7,而 *Trichoderma koningiopsis* 的分生孢子长宽比小于 1.5。有瓶梗层出现现象的木霉菌还有 *Trichoderma gamsii* 和 *Trichoderma viridescens*。*Trichoderma gamsii* 分生孢子的长宽比例在目前所有木霉中最大,为矩形或细卵形;*Trichoderma viridescens* 通常有椰子气味,且该种的分生孢子较 *T. koningiopsis* 颜色浅。尽管木霉菌分类中存在同种异名现象,但本文 *T. koningiopsis* 的中文名称拟康宁木霉参考杨合同^[1]。

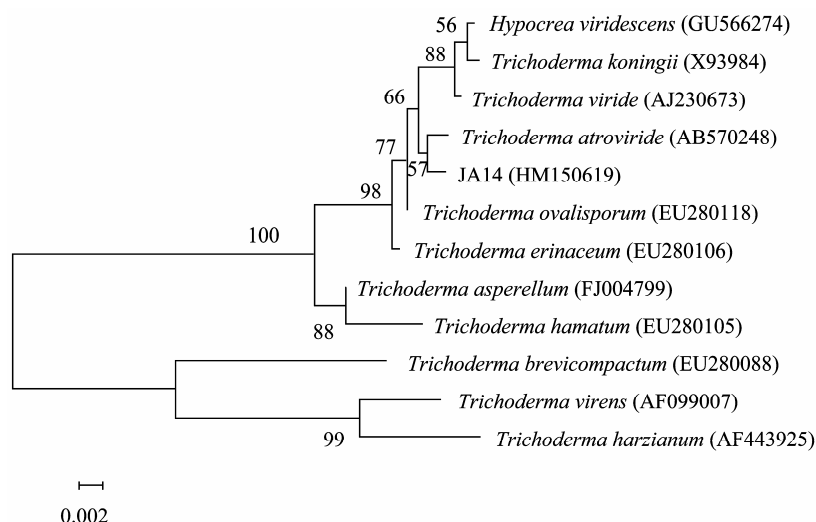


图2 菌株 JA14 ITS 基因系统发育进化树
Fig. 2 Phylogenetic tree base on ITS gene sequences

T. koningiopsis 最早由 Samuels 等人根据 ITS 和 EF-1 α (翻译延长因子 1 α) 及 *act* (肌动蛋白编码基因) 序列结合形态学准确鉴定。该种的有性世代不常见, 发现于树木上, 限于古巴、波多黎各和美国(肯塔基)。无性型分布较广, 最初分离自可可树荚果和树干, 在蘑菇堆制料、土壤以及腐烂叶片上也能分离到, 为全球性分布的种类, 以热带地区最为常见。

T. koningiopsis 具有生防和诱导植物抗性的作用, 可拮抗根串株霉菌 *Thielaviopsis basicola* 及轮枝镰孢菌 *Fusarium verticillioides*, 也用于保护厄瓜多尔可可豆抵抗可可链疫孢荚腐病菌^[9]。最近有研究表明该菌也可拮抗番茄尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 并有促进番茄种子萌发和植株生长的作用^[10]。研究者对番茄幼苗接种 *F. oxysporum* 后接种拟康宁木霉 *T. koningiopsis* Th003, 发现 *F. oxysporum* 在番茄茎部的定殖量 and 对照相比明显下降, 拌种处理的番茄种子比对照提前萌发, 拌种以及出苗后灌根处理的番茄相比对照其根长以及茎、叶的干重都有增长, 效果显著。mRNA 水平研究显示番茄中有 45 个基因的表达受到 *T. koningiopsis* Th003 处理的影响, 其中一些基因参与了茉莉酸和乙烯的转化合成, 揭示了 *T. koningiopsis* Th003 在诱导番茄免疫抗性方面的作用。

参考文献

- [1] 杨合同. 木霉分类与鉴定. 北京: 中国大地出版社, 2009: 1-150.
- [2] Woo, SL, Scala, F, Ruocco, *et al.* The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*, 2006(96): 181-185.
- [3] 文成敬, 陶家凤, 陈文瑞. 中国西南地区木霉属分类研究. 真菌学报, 1993, 12(2): 118-130.
- [4] 章初龙, 徐同. 我国河北、浙江、云南及西藏木霉种记述. 菌物学报, 2005, 24(2): 184-192.
- [5] 孙军, 段玉玺, 吕国忠. 辽宁木霉属 *Trichoderma* 真菌的形态分类研究. 菌物研究, 2006, 4(2): 38-44.
- [6] Bissett J. A revision of the genus *Trichoderma*. Infrageneric II classification. *Canadian Journal of Botany*, 1991(69): 2357-2372.
- [7] Bissett J. A revision of the genus *Trichoderma*. Sect. III *Pachybasium*. *Canadian Journal of Botany*, 1991(69): 2373-2417.
- [8] Bissett J. A revision of the genus *Trichoderma*. Additional IV notes on section *Longibrachiatum*. *Canadian Journal of Botany*, 1991(69): 2418-2420.
- [9] Samuels GJ, Dodd SL, Lu BS, *et al.* The *Trichoderma koningii* aggregate species. *Studies in Mycology*, 2006(56): 67-133.
- [10] Moreno CA, Castillo F, Gonzalez, *et al.* Biological and molecular characterization of the response of tomato plants treated with *Trichoderma koningiopsis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2009(74): 111-120.