

木霉属中国新纪录种 *Trichoderma pleuroticola* 和 *T. pleurotum*

张广志¹ 杨合同^{1,2*} 张新建¹ 李纪顺¹ 陈凯¹ 黄玉杰¹

(1. 山东省科学院中日友好生物技术研究中心 山东省农业微生物重点实验室 山东 济南 250014)

(2. 山东理工大学 生命科学学院 山东 淄博 255049)

摘 要: 【目的】对蔬菜大棚土壤中和阿魏菇腐烂的菌盖上分离的两株木霉菌进行分类鉴定。【方法】结合形态学分类特征和 ITS 序列分析的方法进行鉴定。【结果】从蔬菜大棚的土壤中和阿魏菇腐烂的菌盖上分离的两株木霉菌分别为 *Trichoderma pleuroticola* 和 *T. pleurotum*。 *T. pleuroticola* 的形态特征与 *T. harzianum* 相似, 但其分生孢子显著大于 *T. harzianum* 的分生孢子, 且在 PDA 上产生黑褐色的色素以及黄色的结晶物。 *T. pleurotum* 典型特征是分生孢子梗单生, 有时匍匐, 分枝散生, 初级分枝和分生孢子梗顶端聚生, 类似粘帚霉。【结论】分离的两株木霉分别是 *T. pleuroticola* 和 *T. pleurotum*, 为木霉菌中国新纪录种。

关键词: 木霉, 中国新纪录种, 侧耳木霉, 平菇木霉

Two new Chinese record of the genus *Trichoderma*: *Trichoderma pleuroticola* and *T. pleurotum*

ZHANG Guang-Zhi¹ YANG He-Tong^{1,2*} ZHANG Xin-Jian¹ LI Ji-Shun¹
CHEN Kai¹ HUANG Yu-Jie¹

(1. Biotechnology Center of Shandong Academy of Sciences, Shandong Provincial Key Laboratory for Applied Microbiology, Jinan, Shandong 250014, China)

(2. College of Life Science, Shandong University of Technology, Zibo, Shandong 255049, China)

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2011AA10A205); 国家自然科学基金项目(No. 31101479); 山东省科技攻关项目(No. 2012GGC01020)

*通讯作者: Tel: 86-531-82605386; 信箱: yanght@sdas.org

收稿日期: 2012-07-21; 接受日期: 2012-11-01

Abstract: [Objective] Identification of two *Trichoderma* isolates were isolated from the soil in vegetable greenhouses and the pileus of *Asafoetida* mushroom. **[Methods]** By combination of morphological characters and application of internal transcribed spacer (ITS). **[Results]** Two *Trichoderma* isolates were identified as *Trichoderma pleuroticola* S.H.Yu & Park sp. nov. and *Trichoderma pleurotum* S.H.Yu & Park. The morphological characters of *T. pleuroticola* is similar with *T. harzianum*, but its conidiospore is obviously more than *T. harzianum*, secretes dark brown pigment, and forms yellow crystal on PDA medium. The typical characteristics of *Trichoderma pleurotum* is that its conidiophores are mostly solitary and more or less prostrate, branches scattered, arising separately and bearing crowded whorls of appressed phialides at the apex resembling the conidiophore in *Gliocladium*. **[Conclusion]** Two *Trichoderma* isolates are *T. pleuroticola* and *T. pleurotum* respectively, which are two new record species in China.

Keywords: *Trichoderma*, New Chinese record of the genus *Trichoderma*, *Trichoderma pleuroticola*, *Trichoderma pleurotum*

木霉属(*Trichoderma* Pers.)真菌属于半知菌类的丝孢纲, 丝孢目, 丛梗孢科, 少数种类发现有性型, 属于子囊菌亚门, 肉座目, 肉座科的肉座菌属(*Hypocrea*), 为世界性分布。广泛存在于土壤、腐烂的木材及植物残体等基质中, 通常为土壤中微生物种群的优势种群, 也可存在于植物体内作为内生真菌^[1-2], 甚至在海洋中也有发现^[3-4]。尽管木霉的一些菌株是蘑菇栽培的污染菌, 更有研究表明也是引起动物, 包括人类免疫障碍疾病的机遇性病原菌^[5], 但由于其在酶、抗生素及生防等方面有着重要的经济生产价值而得到世界广泛的研究和关注^[6]。国际真菌分类委员会(ICTF)专门成立了一个木霉分会(ISTH)负责协调和组织各国科学家对木霉菌进行系统的研究, 并提供了一个用于序列相似性分析的在线数据库, 专门用于木霉属种的序列比对分析和鉴定(<http://www.isth.info/>)。

我国幅员辽阔, 地理环境和气候多样, 木霉资源丰富。早期文成敬等^[7]对中国西南地区的木霉属进行了分类研究, 鉴定并描述出 9 个集合种。后来对木霉的形态学分类逐渐采用 Gams &

Bissett 重新修订的分类系统^[6]。章初龙等采纳形态生理学分类特征和分子序列(ITS 和 *tef1*)分析的方法, 发现木霉种类 17 个^[8], 分别是 *T. citrinoviride*、*T. longibrachiatum*、*T. sinensis*、*T. atroviride*、*T. koningii*、*T. viride*、*T. asperellum*、*T. hamatum*、*T. erinaceum*、*T. harzianum*、*T. inhamatum*、*T. velutinum*、*T. cerinum*、*T. strictipile*、*T. spirale*、*T. virens*、*H. nigrovirens* (*Trichoderma* sp.), 其中 *T. asperellum* (棘孢木霉)、*T. cerinum* (淡黄木霉)、*T. spirale* (螺旋木霉)和 *T. velutinum* (茸状木霉)为国内新记录种。孙军等采用形态学分类方法从辽宁省内分离鉴定 12 个种^[9], 分别是 *T. pseudokoningii*、*T. longibrachiatum*、*T. virens*、*T. spirale*、*T. fertile*、*T. strigosum*、*T. longipile*、*T. hamatum*、*T. viride*、*T. koningii*、*T. atroviride* 和 *T. harzianum*, 其中 *T. longipile* (长孢木霉)为中国新记录种。近些年来不断有新纪录种或新种的报道, 章初龙等从紫衫上分离一株内生真菌 *T. tacxi* (紫衫木霉)^[11]; YU Z. F.等从云南烟草根际分离两株国内木霉新记录种 *T. compactum* (致密木霉)和 *T. yunnanense* (云南木霉)^[10]。YUAN Zhilin

等从石斛上分离一株内生木霉 *T. chlorosporum* (绿孢木霉)^[2]; 贾东晨等从新疆沙漠植物园发现一个国内新记录种 *T. brevicompactum* (短致木霉)^[11]。顾金刚等报道国内新纪录种 *T. ovalisporium* (卵孢木霉)^[12], 李广记等发现一个中国新记录种 *T. koningiopsis* (拟康宁木霉)^[13]。国内报道木霉种类达到 27 个。

本研究分别从山东地区蔬菜大棚的土壤和阿魏菇(*Pleurotus ferulae*)菌盖上腐烂部位采样, 得到两株木霉菌株 T2-1 和 T2。参照 Gams & Bissett 重新修订的形态学分类系统^[6], 利用 www.isth.info/index.php 提供的检索系统 Morphological Key 进行形态鉴定, 两个菌株分别符合 *T. pleuroticola* 和 *T. pleurotum* 的特征。进一步将两株木霉的内转录间隔区(ITS)序列在 www.isth.info/index.php 提供的在线对比检索对比系统 TrichOKEY 进行检索, 结果与两种木霉菌的相似度均在 99% 以上, 其中 *T. pleurotum* 与 Monika Komon-Zelazowska 等提供的菌株(CPK2113)序列相似度达 100%^[14]。由此确定本研究分离的两个木霉菌株 T2-1 和 T2 为中国新纪录种 *T. pleuroticola* (侧耳木霉)和 *T. pleurotum* (平菇木霉)。该两种木霉属于 Section Pachybasium 组中的 Clade Harzianum 进化支, 最早发现于韩国, 为平菇(Oyster mushroom *Pleurotus*)的病原菌^[15], 后来也发现于欧洲、北美、秘鲁、伊朗等国家的土壤和木材上^[14]。

侧耳木霉 图 1

Trichoderma pleuroticola S.H.Yu & Park, Mycobiology, 34(3): 111–113, 2006, Fig. 1

该菌株(T2-1)分离自山东省聊城黄瓜大棚土壤中。在 PDA 上 30 °C 条件下培养 48–72 h 后, 产生簇状白色气生菌丝, 分生孢子梗形成小疱, 汇合为宽的同心轮纹, 开始为灰绿色, 很快转变为灰绿色。菌落背面开始无色, 随着菌龄增长, 在

MA (麦芽汁琼脂, 下同)上为暗黄色, 培养 7 d 后产生大量小型黄色结晶物。分生孢子梗分枝近似金字塔形, 越接近基部分枝越长, 分枝单生或向梗的主轴基部对生, 接近主轴顶端时一般 3–4 个分枝排列为轮枝状, 初级分枝的再分枝形式类似主轴分枝方式。主轴基部宽度 5.5 μm, 向上逐渐变细, 顶端为 2.5 μm–3.0 μm, 最顶端的分枝圆柱形, 大小(6–14) μm×(2.5–3.3) μm。瓶梗对生, 或者在顶生分枝上 3–4 个排列为轮枝状, 或者分散着生并沿分生孢子梗或者分枝侧面散生, 安瓿形或烧瓶形, 顶部突然变细为梗颈, 着生分生孢子, 宽度小于 1.0 μm, 大小通常为(4.2–9.5) μm×(3.0–4.2) μm, 顶生瓶梗细长, 长度可达 20 μm。

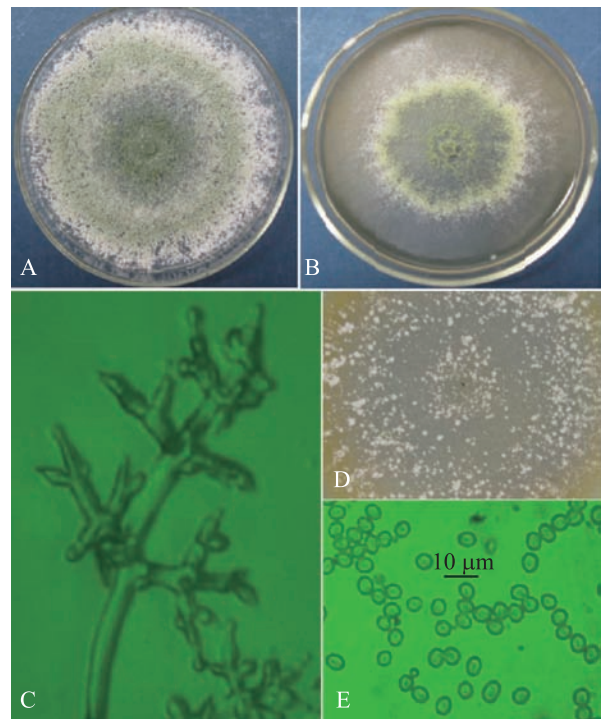


图 1 侧耳木霉

Fig. 1 *Trichoderma pleuroticola*

注: A: PDA 培养基培养 3 d 时的菌落形态; B: MA 培养基上培养 3 d 时的菌落形态; C: 分生孢子梗和瓶梗; D: 在 MA 上的产孢簇; E: 分生孢子。

Note: A: Colony on PDA for 3 days; B: Colony on MA for 3 days; C: Conidiophores and phialides; D: Pustules on MA; E: Conidia.

分生孢子亚球形至宽椭圆形, 大小为 $(2.6-5.0) \mu\text{m} \times (2.4-3.7) \mu\text{m}$, 显微镜下为亮绿色, 聚集成团时为黑灰绿色, 壁光滑。

T2-1 菌株形态类似 *T. harzianum*, 但其分生孢子显著大于 *T. harzianum* 的分生孢子, 且在 PDA 上产生黑褐色的色素以及黄色的结晶物, 这与 Park 和 Monika 等描述的种的特征一致^[14-15]。

平菇木霉 图 2

Trichoderma pleurotum S.H.Yu & Park. Mycobiology, 34(3): 111-113, 2006, Fig. 2

该菌株(T2)在 PDA 上初产生浅黄色的菌落, 30 °C 条件下培养 5 d 后, 呈暗黄色至红褐色。在 MA 上菌落产生有限的气生菌丝, 产孢较稀少, 开始为白绿色或者灰绿色, 30 °C 条件下培养 5 d 后为暗灰绿色, 产孢区均匀, 形成不规则的小疱。分生孢子梗简单分枝, 初级分枝角度近似直角, 类似于粘帚霉(*Gliocladium*), 一般具有 2-4 个轮生的分枝, 瓶梗 4-7 个轮枝状排列, 近似安瓿形, 少数烧瓶形, 大小通常为 $(4.5-7.0) \mu\text{m} \times (2.0-4.0) \mu\text{m}$ 。大多数分生孢子为椭圆形, 也有少数孢子为亚球形, 大小 $(2.5-4.5) \mu\text{m} \times (1.7-2.5) \mu\text{m}$, 壁光滑, 苍绿色。该菌株主要特征与 Park 等描述的模式种及 Monika Komon-Zelazowska 等关于 *T. pleurotum* 的描述一致^[14-15], 尤其是其分生孢子梗倒伏呈匍匐状(图 2B), 顶端分枝, 着生致密轮状排列且紧贴在一起的瓶梗, 类似 *Gliocladium* 独特的分枝方式(图 2C), 明显区别于其它木霉种类, 符合 Park 和 Monika 等关于 *Trichoderma pleurotum* 的描述。

本研究发现的平菇木霉 T2, 分离自本实验栽培的阿魏菇菇体的菌盖上, 同样为病原菌, 在有水珠等湿润条件下, 可导致阿魏菇、杏鲍菇等菌盖部位腐烂, 呈浅黄色, 上着生浅黄色绒毛状木霉菌丝。本文中木霉中文名称均参考杨合同^[16]。

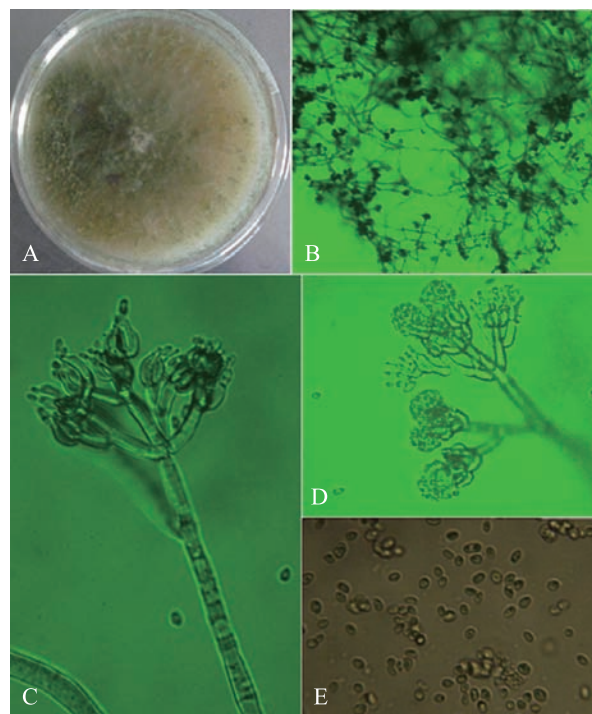


图 2 平菇木霉

Fig. 2 *Trichoderma pleurotum*

注: A: PDA 培养基上的菌落形态; B: 分生孢子梗匍匐, 呈粘帚霉型分枝; C: 具有顶端密集分枝和瓶梗的分生孢子梗; D: 尖端紧贴在一起的瓶梗和分生孢子; E: 椭圆形分生孢子。

Note: A: Colony on PDA; B: Prostrate conidiophore with gliocladium-like branches; C: Conidiophore with crowded apical branches and phialides; D: Terminal branches with phialides; E: Ellipsoid conidia.

参 考 文 献

- [1] Zhang CL, Liu SP, Lin FC, et al. *Trichoderma taxi* sp. nov. an endophytic fungus from Chinese yew *Taxus mairei*[J]. Microbiology Letters, 2007, 270(1): 90-96.
- [2] Yuan ZL, Chen YC, Zhang CL, et al. *Trichoderma chlorosporum*, a new record of endophytic fungi from *Dendrobium nobile* in China[J]. Mycosystema, 2008, 27(4): 608-610.
- [3] 王书锦, 胡江春, 薛德林, 等. 中国黄、渤海、辽宁近海地区海洋微生物资源的研究[J]. 锦州师范学院学报: 自然科学版, 2001, 22(1): 1-5.
- [4] 孟繁梅, 艾云灿. 一株海洋真菌 *Trichoderma* sp.

- Q98合成产物分析[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2005, 44(2): 12-25.
- [5] Druzhinina I, Kubicek CP. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters?[J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2005, 6(2): 100-112.
- [6] Harman GE, Kubicek CP. *Trichoderma* and *Cliocladium*[A]//Gams W, Biesett J. Morphology and Identification of *Trichoderma*[M]. Pennsylvania: Taylor and Francis Incorporated, 1998: 3-34.
- [7] 文成敬, 陶家凤, 陈文瑞. 中国西南地区木霉属分类研究[J]. 真菌学报, 1993, 12(2): 118-130.
- [8] Zhang CL, Xu T. *Trichoderma* species from China[J]. Journal of Zhejiang University: Agriculture and life Sciences, 2004, 30(4): 464.
- [9] 孙 军, 段玉玺, 吕国忠. 木霉菌及其系统分类学研究回顾[J]. 菌物研究, 2006, 4(1): 57-63.
- [10] Yu ZF, Qiao M, Zhang Y, et al. Two new species of *Trichoderma* from Yunnan, China[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2007, 92(1): 101-108.
- [11] 贾东晨, 余泽芬, 乔敏, 等. 木霉属中国新记录种[J]. 菌物学报, 2009, 28(6): 860-862.
- [12] 顾金刚, 李世贵, 刘卫星, 等. 木霉属真菌的分离与鉴定[A]//中国微生物学会微生物资源专业委员会成立大会暨第一届学术研讨会论文集[C]. 北京: 中国微生物学会, 2009: 27-30.
- [13] 李广记, 陈捷, 刘铜, 等. 木霉属中国新记录种 *Trichoderma koningiopsis* 记述[J]. 微生物学通报, 2010, 37(11): 1663-1665.
- [14] Komoń-Zelazowska M, Bissett J, Zafari D, et al. Genetically closely related but phenotypically divergent *Trichoderma* species cause green mold disease in oyster mushroom farms worldwide[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(22): 7415-7426.
- [15] Park MS, Bae KS, Yu SH. Two new species of *Trichoderma* associated with green mold of oyster mushroom cultivation in korea[J]. Mycobiology, 2006, 34(3): 111-113.
- [16] 杨合同. 木霉分类与鉴定 A528[M]. 北京: 中国大地出版社, 2009.

稿件书写规范

专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学及相关领域学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择在实践中具有重要意义和重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。