

赵媛, 卢凤英. 作物内生菌研究进展[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(10): 20-22.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.005

作物内生菌研究进展

赵媛, 卢凤英

(青海大学生态环境工程学院, 青海西宁 810016)

摘要:近几年,植物内生菌已经成为研究的热点。内生菌发展潜力巨大,概述了近些年内生菌的研究成果,主要包括内生菌的定义、内生菌与宿主的关系、内生菌的各项生理功能以及存在的问题。

关键词:作物;内生菌;生理功能;特点;宿主

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0020-03

1 内生菌的定义

人们对内生菌的定义一直都存在不同的看法。植物内生菌研究始于 19 世纪中叶, Be Barry 首先提出内生菌一词“endophyte”^[1]。1992 年, Kloepper 等提出了“植物内生细菌”概念, 把植物内生菌定义为能够定殖在植物组织间隙或者细胞内部, 并且与宿主植物建立起共栖、互惠共生、共养等关系的微生物。James 等将植物内生细菌定义为一切生存或者定殖在植物内部的微生物并且包括有活性的细菌、处于休眠期的致病菌^[2]。综上所述, 可以将植物内生菌定义为那些在其生活史的一定阶段或全部阶段生活于健康植物的各种组织、器官内部的真菌或细菌, 被感染的宿主植物(至少是暂时)不表现出症状^[3]。

2 作物内生菌的特点

2.1 作物内生菌具有普遍性

研究发现, 地球上有一百万种植物, 几乎所有的植物都有内生菌^[4]。在作物体内也普遍存在内生菌。内生菌广泛定殖于植物的根、茎、叶、花、果、胚、种子等器官组织的细胞或细胞间隙中, 在植物的根瘤中也存在内生菌^[5]。近年来, 研究人员已经从葱的根、茎、叶, 番茄的根、茎, 油菜的根、茎、叶、花、种子, 花生的根、茎、叶、种子, 小麦的根、茎、叶、叶鞘, 马铃薯的块茎、种子、胚珠, 棉花的胚根、棉铃及其他植物各器官内分离出大量内生菌^[6]。植物体内内生菌数量、种类与植物的种类、生存环境、生长阶段、营养供给及基因型有密切关系, 不同地区、不同环境下生长的同种植物组织中存在的内生菌种类、数目均有较大差异, 即使同一地区的同一植物不同组织部位中内生菌的数量、种类也不相同。一般来说, 生长在热带、亚热带地区的植物与生长在较干燥、寒冷环境下的植物相比, 前者内生菌的数量、种类多; 生长速度快的植物内生菌数量比生长速度慢的植物多; 生长时间长的植株内生菌数量比生长

时间短的植株多^[7]。

2.2 作物内生菌具有多样性

作物内生菌具有多样性, 本研究主要介绍菌种多样性、寄主多样性、侵染方式多样性。内生菌的种类繁多, 主要包括内生细菌、内生真菌、内生放线菌 3 类^[8]。目前对内生菌分类鉴定方法主要包括以其形态学或生理生化特征为依据的表型分类法(或常规的分类法)和利用现代技术方法进行分类, 如近年来发展起来的化学鉴定、数值分类法、分子生物学技术等^[9]。内生菌普遍存在于生物圈中。目前全世界至少已在 80 个属 290 多种禾本科植物中发现内生真菌^[3]。田琴在小麦中分离出具有抗病原菌的内生菌, 它对烟草赤星病具有较好的抗性^[10]。刘卫今在不同品种柑橘中分离出具有耐冷性的内生菌^[11]。张俊兰从几种食用菌中分离出内生菌, 发现其对大肠杆菌、酵母菌、木霉菌都有抑制作用^[12]。内生菌侵染宿主的方式也多种多样, 以气流、雨水、土壤、种子、昆虫等为媒介, 以内生菌体或孢子形式通过变形、吸器或渗透等途径侵染植物, 内生菌也可以通过分解植物表皮细胞壁或通过各种自然开口(包括侧根发生处、气孔、水孔等)或伤口(包括土壤对根的磨损, 病虫对植物的损害及收割多年生植物造成的伤口等)等传播途径进入植物^[7,13]。

3 内生菌与宿主的共处方式

内生菌与宿主在长期的共存生活中形成复杂且特殊的关系。有人将其描述为与宿主互惠互利的关系, 有人认为是特殊的寄生关系, 这种寄生一般不会引起植物的相关病症, 当植物衰老或受到环境胁迫时又会变成病原菌而引起植物病害, 即内生菌和宿主植物之间是处于动态平衡的拮抗关系^[14]。共生时, 不同内生菌对其宿主专一性差别较大, 有的内生菌只与某种植物共生, 有的可同时与多种植物共生^[7]。

4 作物内生菌生理功能

4.1 促进作物生长发育

作物内生菌对作物的生长发育具有促进作用, 内生菌通过影响宿主植物体内的物质代谢促进宿主植物的生长。Mallnow 等发现, 酥油草的根系感染内生真菌后酥油草对磷的吸收能力更强, 同时根系钙、镁等营养元素的含量也较高^[15]。感染内生菌的植物一般比未感染内生菌的植株生长

收稿日期: 2014-12-16

基金项目: 青海大学生态环境工程学院“华美源”基金(编号: SHJ-12-4)。

作者简介: 赵媛(1984—), 女, 内蒙古乌兰察布人, 硕士, 助教, 从事微生物研究。Tel: (0971)5312936; E-mail: 116733168@qq.com。

更快,内生菌可增进宿主植物对氮、磷、钾等营养元素的吸收^[3]。内生菌可以促进作物对各元素的吸收来增加其产量。研究人员现已从甘蔗、牧草、禾谷类植物(水稻、玉米、小麦、高粱等)以及棕榈树、块根植物、甘薯等非豆科植物中分离得到多种具有固氮作用的内生细菌^[8]。内生菌通过促进植物根系的发育或通过内生固氮菌来获得更多的无机氮。同时,内生菌侵染植物时能分泌多种胞外酶,如漆酶、蛋白水解酶等,这些酶的存在为宿主植物利用有机养分提供了条件^[16]。内生菌通过改变根部周围的环境来缓解非生物压力,如分泌胞外多糖来改变土壤结构,从而提高植物根部对环境的适应性,促进植物生长^[8]。

4.2 增强作物的抗逆性

有些作物具有抗逆性,能在低温或缺水或高盐碱的地方生长,有些作物则不能。作物内生菌的抗逆性主要表现在以下几方面:抗旱、抗寒、抗高温、抗盐碱、抗病虫害及对病原体拮抗等。研究发现,内生菌具有增加植物应激的能力,当没有内生菌存在时,植物不能耐受居住地的各种生物或非生物的应激而无法生存。内生菌与植物共生协助时,植物能在一些环境恶劣、贫瘠的土地上生存,增加植物对环境的适应能力^[17]。Kuldau 等研究了麦角菌科内生真菌对禾草抗多种压力的影响,证明麦角菌科内生真菌能提高禾草耐旱、耐贫瘠能力^[15]。吴嵩民等发现,内生菌 73a 具有增加棉花过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性,这 2 种酶能提高植物对病原菌的抵抗力^[18]。张鑫等从核桃的根、茎、叶、果中分离得到 27 株内生真菌,这些内生真菌能够产生多种具有抑菌活性、化感作用的次生代谢产物^[19]。王刚等在实验室筛选出 1 株初步鉴定为蜡样芽孢杆菌的菌株,证明其对小麦纹枯病菌具有抑制作用^[20]。

内生菌增强作物各种抗逆性的机制还不清楚,目前学术界有以下 4 种观点:(1)内生菌帮助作物产生生物活性物质如抗生素类物质、水解酶、植物生长调节剂、生物碱等。(2)内生菌通过增加宿主对矿物质、重金属以及有机物质的吸收能力来提高宿主对恶劣环境的适应性。(3)增强作物的抗逆性,内生菌可以改变环境,包括降低植冠温度、增加草坪草密度、增强水分吸收能力、增加宿主生物氧化及渗透调节能力等。Martin 等发现野草体内内生菌通过降低除草剂的药效来增加草对农药的抵抗能力^[21]。(4)与病原菌竞争营养物质,促进宿主植物生长,增强植物抵抗力或诱导植物产生抗性。

4.3 产生抗肿瘤物质

1993 年,Stierle 等首次从短叶红豆杉的树皮中分离出能产紫杉醇的内生真菌^[22]。植物内生菌产生的抗肿瘤的活性代谢产物多种多样,主要有萜类抗肿瘤物质、生物碱类抗肿瘤物质、醌类抗肿瘤物质、木脂素类抗肿瘤物质、酶抑制剂抗肿瘤物质等。长春新碱是从夹竹桃科植物长春花中提取的生物碱,具有抗肿瘤活性,尤其对白血病和恶性淋巴瘤具有显著疗效^[23]。从短叶红豆杉、秦艽、茶茱萸、银杏、人参、小麦等植物的根、茎、叶内分离出的内生菌能产生与宿主植物相同或相似的抗肿瘤活性物质、抗菌活性物质^[15]。至今,学者们已经从短叶杉、西藏红豆杉、欧洲红豆杉、南方红豆杉等植物中分离了多种能产生紫杉醇及其衍生物的内生菌。布雷非德菌素是一种大环内酯类紫杉醇衍生物,有明显的抗肿瘤活性作

用^[19]。除以上这些抗肿瘤的活性物质外,还有其他类抗肿瘤物质,如球毛壳甲素 A、壳囊孢酮 B,其中多糖、肽类等植物内生菌的代谢产物也有明显的抑制癌细胞生长的作用^[23]。颜铭利用基于植物内生菌代谢酶基因筛选抗癌传统中草药的方法,筛选出对细胞生长具有抑制作用的内生菌^[24]。

4.4 产生药用活性成分

大多数药用植物在其生活史中都伴随着内生菌。这些内生菌可以产生与宿主相同的活性物质,对药用植物内生菌进行研究及开发将在一定程度上缓解药用植物资源匮乏的现状^[25]。1986 年,人们首次在单子叶植物百合组织中发现与其互利共生的内生菌,其代谢产物富含天然维生素 E、天然维生素 C、维生素 B₆、多糖、胱甘肽、类 SOD 及生物碱等主要抗氧化物活性成分^[26]。内生菌产生的药用活性成分具有抗肿瘤、抗病原菌、抗病毒、抗氧化等作用^[25]。Castillo 等发现,1 株内生链霉菌能够产生一类活性多肽物质,它具有广谱的抗菌活性,能较好地抑制耐药性病原菌、寄生虫^[27]。田小曼等从青蒿中分离的内生菌能够分泌抗病活性物质,对棉花枯萎病、小麦赤霉病都有抗性^[28]。李伟南等从蒲公英中分离出的 3 株内生真菌对鸡致病性大肠杆菌均有较强的抑制效果^[29]。除此之外,内生菌产生的活性物质能激活机体的免疫功能、排除生物垃圾、清理自由基^[26]。范纯武等认为,内生菌糖不仅是生物细胞良好的活性保护剂,而且具有较强的抗电磁辐射能力,能促进细胞分裂增殖,提高机体免疫功能^[30]。白藜芦醇有预防和减缓癌症、心血管疾病及缺血性损伤等多种疾病功能,张冠庆等发现,从酿酒葡萄梅洛特的葡萄皮、葡萄穗轴及梗中分离出的内生菌具有产白藜芦醇的能力^[31]。Lin 等发现,从药用植物中分离出的内生真菌含有丰富的 PKS 基因^[32]。由此可见,开展药用植物内生菌研究对药用植物资源、特别是濒危植物资源保护具有重要意义^[33]。

4.5 与作物联合修复重金属污染

目前重金属污染已经成为全球性环境问题。为减轻重金属污染,人们常采用过滤或超滤、化学沉淀、电化学处理、氧化/还原、离子交换技术、膜技术、反渗透技术等一系列传统的物理化学手段来进行重金属修复处理。这些传统手段具有明显的局限性,如成本高、修复效果有限、不稳定、危险、会造成二次污染等^[2]。目前利用植物内生菌进行生物防治是研究热点,利用对重金属具有积累能力的内生菌及植物共生体可为土壤重金属污染的植物修复提供可能^[25]。内生菌在植物体内能够降低重金属的毒性并影响重金属的运输、聚集^[34]。耐重金属内生菌可以通过固氮、溶解矿物元素及产生类植物激素、铁载体、ACC 脱氢酶等产物促进植物生长及对重金属的吸收^[35]。肖潇在具有 DCC、DNP 代谢抑制剂的条件下,从镉超累积植物龙葵中分离的内生菌对重金属的修复能力较强^[2]。植物-内生菌联合修复重金属污染方式非常独特,由于内生菌独特的生存环境,修复过程对土著微生物影响非常小,对环境无污染,发展应用潜力较好^[36]。

5 内生菌研究中存在的问题

目前关于内生菌研究仍然存在许多问题:(1)对内生菌进行分离、检测所用的方法以及不当保存会造成内生菌死亡或退化^[1]。除此之外,目前所研究并能分离出来的内生菌

还很少,有些内生菌以寄生为主,从植物体内分离后由于环境改变导致无法进行培养^[15]。由此看来,内生菌研究需要在方法、技术方面作进一步改进。(2)内生菌具有双重性,内生菌一方面可以促进植物生长,另一方面会引起以宿主为食的动物中毒^[1]。也就是说内生菌在促进植物生长的同时,对人类或其他动物可能有害,因此利用内生菌时应格外小心。把对某些宿主植物具有益生作用的内生菌移植到其他植物体内时可能成为病原菌^[37]。环境对内生菌的影响是不可忽视的。(3)植物内生菌本身就是生物活体,因此内生菌所产生的活性物质也是不稳定的^[38]。有些生物活性物质既不能由宿主植物单独产生,也不能由内生菌单独产生,而是两者协同作用的结果^[22]。除此之外,Purahong 等发现,内生菌真菌分解率增加或减少主要由内生菌和宿主植物共同决定^[39]。把内生菌从植物体内分离出来后,内生菌并不产生相应的活性物质。即使从植物体内分离出内生菌,并且内生菌能产生活性物质,但由于内生菌的次生代谢产物复杂多样,发酵的次生代谢产物也不稳定^[31]。(4)内生菌的遗传基础复杂,所以内生菌的分子生物学育种仍有困难,目前主要还是利用传统育种技术对其进行改良^[15]。内生真菌增强宿主植物竞争能力的同时也会降低群落多样性^[14]。

参考文献:

- [1]王瑶瑶,韩烈保,曾会明.禾本科植物内生菌研究进展[J].生物技术通报,2008(3):33-38.
- [2]肖潇.基于镉超累积植物内生菌的重金属污染修复研究[D].长沙:湖南大学,2011.
- [3]石晶盈,陈维信,刘爱媛.植物内生菌及其防治植物病害的研究进展[J].生态学报,2006,26(7):2395-2401.
- [4]谢风颖.几种药用植物内生真菌的分离鉴定及菌丝培养特性研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2012.
- [5]谭广秀.具有抑菌活性的桑树内生菌的分离鉴定及其抑菌物质研究[D].镇江:江苏科技大学,2012.
- [6]苗文莉.小麦内生真菌多样性及其与宿主关系研究[D].郑州:郑州大学,2011.
- [7]姚领爱,胡之璧,王莉莉,等.植物内生菌与宿主关系研究进展[J].生态环境学报,2010,19(7):1750-1754.
- [8]徐亚军.植物内生菌资源多样性研究进展[J].广东农业科学,2011,38(24):149-152.
- [9]赵旭,常思静,景春娥,等.我国植物内生菌研究进展[J].中国沙漠,2010,30(1):87-91.
- [10]田琴.小麦内生放线菌的分离鉴定及防病促生作用研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2012.
- [11]刘卫今.不同柑橘品种耐冷内生菌的分离鉴定与遗传多样性分析[D].长沙:中南大学,2012.
- [12]张俊兰.食用菌内生菌的分离鉴定及其代谢产物的初步研究[D].福州:福建农林大学,2010.
- [13]夏静.鸭胆子内生菌的生物多样性及其抑菌活性初探[D].广州:广州中医药大学,2012.
- [14]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.
- [15]马彩霞,姜东亮,魏希颖.内生菌与宿主植物关系及其育种技术的研究进展[J].药物生物技术,2010,17(4):353-356.
- [16]杨波,陈晏,李霞,等.植物内生菌促进宿主氮吸收与代谢研究进展[J].生态学报,2013,33(9):2656-2664.
- [17]王聪艳,周志国,武汉琴,等.植物内生真菌研究进展[J].生物学教学,2015,40(3):2-4.
- [18]吴嵩民,顾本康,傅正擎,等.内生菌 73a 防治棉花黄萎病机理[J].江苏农业学报,2002,18(1):48-51.
- [19]张鑫,孟国庆,刘新利.内生菌的分离方法及其次级代谢产物研究[J].山东轻工业学院学报:自然科学版,2011,25(2):23-26,34.
- [20]王刚,李志强.小麦内生细菌的分离及其对小麦纹枯菌的拮抗作用[J].微生物学通报,2005,32(2):20-24.
- [21]Martin M,Vila-Aiub M,Alejandra Martinez-Ghersa. Evolution of herbicide resistance in weeds; vertically transmitted fungal endophytes as genetic entities [J]. Evolutionary Ecology, 2003, 17: 441-456.
- [22]陈飞雪.植物内生菌生物活性物质研究进展[J].生物学教学,2010,35(1):4-6.
- [23]范丽霞,郑继平.植物内生菌抗肿瘤活性产物研究进展[J].安徽农业科学,2012,40(8):4547-4550.
- [24]颜铭.基于植物内生菌代谢酶基因筛选抗癌传统中草药[D].昆明:昆明医科大学,2012.
- [25]徐玲玲,单庆红,郭斌.植物内生菌研究进展及应用展望[J].安徽农业科学,2013,41(13):5641-5643,5709.
- [26]范纯武,周锋,边海泉,等.内生菌提高免疫功能的实验研究[J].中国现代医药杂志,2009,11(6):111-112.
- [27]胡桂萍,郑雪芳,尤民生,等.植物内生菌的研究进展[J].福建农业学报,2010,25(2):226-234.
- [28]田小曼,吴云锋,张珏.青蒿内生菌的分离及抗病活性物质的筛选[J].西北农业学报,2008,17(4):186-190.
- [29]李伟南,张慧茹.3株蒲公英内生真菌的分离鉴定及抗禽类致病菌活性的初步研究[J].安徽农业科学,2008,36(22):9540-9542.
- [30]范纯武,赵锐.内生菌糖抗电磁辐射的生物学效应[J].中国水电医学,2004(1):2-4.
- [31]张冠庆,魏文静,白雪,等.植物内生菌药用研究进展[J].中央民族大学学报:自然科学版,2013,22(2):60-62.
- [32]Lin X,Huang Y J,Zheng Z H, et al. Endophytes from the pharmaceutical plant, *Annona squamosa*: isolation, bioactivity, identification and diversity of its polyketide synthase gene [J]. Fungal Diversity, 2010,41(1):41-51.
- [33]杜慧竟,苏静,余利岩,等.药用植物内生放线菌的分离和生物学特性[J].微生物学报,2013,53(1):15-23.
- [34]Li H Y,Wei D Q,Shen M, et al. Endophytes and their role in phytoremediation [J]. Fungal Diversity, 2012,54(1):11-18.
- [35]夏娟娟.植物促生内生细菌的筛选及其强化油菜富集土壤铅镉重金属的研究[D].南京:南京农业大学,2006.
- [36]杨喜爱,肖爱平,冷鹏,等.植物重金属抗性内生细菌作用机制研究进展[J].安徽农学通报,2013,19(19):31-32,46.
- [37]李强,刘军,周东坡,等.植物内生菌的开发与研究进展[J].生物技术通报,2006(3):33-37.
- [38]窦瑞木.植物内生菌及其防病作用研究进展[J].河南农业,2008(6):31-32.
- [39]Purahong W,Hyde K D. Effects of fungal endophytes on grass and non-grass litter decomposition rates [J]. Fungal Diversity, 2011, 47(1):1-7.