

## 烟草内生菌资源及其应用研究进展

邢颖<sup>1,2</sup> 张莘<sup>2</sup> 郝志鹏<sup>2</sup> 赵正雄<sup>3</sup> 于有志<sup>1</sup> 陈保冬<sup>2\*</sup>

(1. 宁夏大学 农学院 宁夏 银川 750021)

(2. 中国科学院生态环境研究中心 城市与区域生态国家重点实验室 北京 100085)

(3. 云南农业大学 烟草学院 云南 昆明 650201)

**摘要:** 烟草内生菌广泛分布于烟草根、茎、叶及种子中,具有丰富的生物多样性。研究发现感染内生菌的烟草往往具有生长迅速、抗病虫害能力强、亚硝胺类物质含量低等优势,总体上具有更强的生存竞争力和更优的品质。本文综述了烟草内生菌资源概况及其在烟草栽培中的重要作用,总结了内生菌作用机制。最后,探讨了当前烟草内生菌应用中存在的问题,并对其应用前景进行了展望。

**关键词:** 烟草, 内生菌, 促生作用, 病虫害, 亚硝胺类物质

## Biodiversity of endophytes in tobacco plants and their potential application—a mini review

XING Ying<sup>1,2</sup> ZHANG Xin<sup>2</sup> HAO Zhi-Peng<sup>2</sup> ZHAO Zheng-Xiong<sup>3</sup> YU You-Zhi<sup>1</sup>  
CHEN Bao-Dong<sup>2\*</sup>

(1. Agricultural College, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

(2. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

(3. College of Tobacco, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

**Abstract:** Endophytes are widely distributed in roots, stems and seeds of tobacco plants. It has been well documented that tobacco plants infected by endophytes are generally more competitive compared with uninfected plants, as indicated by better growth, stronger resistance to diseases and pests, and lower content of nitrosamines. This paper reviewed recent research progresses in biodiversity of endophytes in tobacco plants and their important role in tobacco cultivation, and summarized the functioning mechanisms of endophytes. Finally, the weaknesses in current research were discussed, and research perspectives were also proposed.

**Keywords:** Tobacco, Endophytes, Growth-promotion, Diseases and pests, Nitrosamines

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41101245); 国家科技支撑计划项目(No. 2012BAI29B02)

\*通讯作者: ✉: bdchen@rcees.ac.cn

收稿日期: 2014-06-15; 接受日期: 2014-10-16; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-10-21

内生菌(Endophyte)一词由 De Bary<sup>[1]</sup>在 1866 年首先提出,是指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和器官内部的真菌或细菌。被感染的宿主植物(至少是暂时)不表现出外在病症,但可通过组织学方法或从严格表面消毒的植物组织中分离微生物或直接扩增出微生物 DNA 的方法来证明内生菌的存在。内生菌不仅包括互惠互利的和中性的内共生微生物,也包括那些潜伏在宿主体内的病原微生物,这些微生物有细菌、真菌、放线菌等。由于内生菌生活在没有外在感染症状的植物组织内,其存在及作用长期以来被忽视。直到 1993 年 Stierle 等<sup>[2]</sup>从短叶红杉(*Taxus revifolia*)的韧皮部发现能够产生紫杉醇的内生真菌,为紫杉醇的药源开发提供了新的途径,人们才开始对植物内生菌开展广泛而深入的研究。植物内生菌分布广,种类多,几乎存在于所有目前已研究过的陆生及水生植物中<sup>[3]</sup>。烟草(*Nicotiana tabacum* L.)作为重要的经济作物,对其内生菌的研究也受到众多相关研究者的关注。

烟草是茄科(Solanaceae)烟草属(*Nicotiana*)一年生或多年生草本植物。我国的烟草种植面积和产量均居世界首位,目前年种植烟草 100–120 万  $\text{hm}^2$ ,烟叶产量 160–225 万 t。国家统计局数据显示,2011 年我国烟草行业累计实现销售收入约 10 万亿元,实现工商利税 7 500 多亿元,无疑给国家的税收提供了重要保障<sup>[4]</sup>。烟草除主要用于卷烟生产外,还可以从中提取多种有价值的化学成分,如从烟草中提取的茄尼醇、烟碱等用于制药原料;烟草蛋白和烟草多糖可供食用<sup>[5]</sup>。随着基因工程研究的深入,利用转基因烟草研制治疗癌症等疾病的生物药物和防治其他疾病的疫苗已成为生药研究领域的前沿课题<sup>[6]</sup>。近年来,随着微生物生态学的迅速发展,专家学者们在关注烟草自身价值的同时,更加注重发掘烟草内生菌在烟草生长、发育以及抵抗不良环境中的重要作用。本文基于近年来相关文献,综述了烟草内生菌资源及其在烟草栽培中的重要应用,同时讨论了当前烟

草内生菌应用中存在的问题并对其应用前景进行了展望,以期推动相关研究工作进展。

## 1 烟草内生菌多样性

内生菌一般包括内生细菌、内生真菌和内生放线菌<sup>[7]</sup>。研究发现植物内生菌广泛存在,几乎存在于地球上的所有植物中<sup>[8]</sup>,农业领域对小麦、玉米、棉花、马铃薯、甘蔗、油菜、烟草等作物的内生菌研究较多<sup>[9–15]</sup>。对同一种植物而言,分离得到的内生菌可有数种至数十种,有的甚至达到数百种<sup>[16–18]</sup>。目前分离到的植物内生细菌大约有 120 多种,隶属于 54 个属,其中最为常见的为假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)以及农杆菌属(*Agrobacterium*)<sup>[19]</sup>。大部分植物内生真菌都属于子囊菌(Ascomycetes),在多种植物中广泛分布的几个属包括:半壳霉属(*Leptostroma*)、*Cryptocline* 属、拟隐孢霉属(*Cryptosporipsis*)、拟茎点霉属(*Phomopsis*)和叶点霉属(*Phyllosticta*)等<sup>[20–22]</sup>。采用榨取植物组织液稀释分离的方法,从烟草的根茎叶中均能检测到内生菌<sup>[23]</sup>。云南省烟草农业科学研究院以云南省主栽烟草品种的根、茎、叶为试验材料,系统地完成了烟草内生菌资源收集、分离、鉴定和多样性特征研究,共分离、鉴定和保藏烟草内生菌资源 1 393 株,分属芽孢杆菌属(*Bacillus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)等 30 多个属,51 个种<sup>[24]</sup>。裴洲洋<sup>[25]</sup>以河南省主栽烟草品种的根、茎、叶为试验材料,对 9 个品种不同生育期烟草中内生真菌的多样性及变化规律进行了研究,并建立了烟草内生真菌资源库,共获得 977 个菌株,其中 943 株产孢,分属于 15 个属,准确鉴定到种的有 23 种,其中链格孢菌属(*Alternaria*)和毛壳属(*Chaetomium*)是烟草内生真菌的优势属。

烟草内生菌的种类、分布及数量受到植物类型、环境因素及植物生长期等多种因素的共同影响<sup>[26–27]</sup>。研究发现烟草内生菌主要为内生细菌,其他还有少量的内生真菌与内生放线菌<sup>[24,28]</sup>。内生菌

在烟草中的分布与烟草品种和部位有重要的关系, 黄晓辉等对 4 个烟草品种的种子、根、茎、叶进行了内生菌的分离计数后发现, K326 和红花大金元内生菌数量较多, 而净叶黄和 G-80 内生菌数量较少。烟草不同器官中内生菌的分布表现为根和种子中数量相当, 茎次之, 叶最少的规律<sup>[28]</sup>。裴洲洋<sup>[25]</sup>研究发现烟草内生真菌在烟草中的分布表现为, 叶带菌量最多, 茎次之, 根最少的规律, 其中叶部内生真菌涉及 14 个属, 茎部和根部分别涉及 11 个属和 7 个属。马冠华等<sup>[23]</sup>研究发现, 在烟草的整个生育期中, 内生细菌的数量从种子到出苗期大幅增加, 从出苗期到十字期又大幅度下降, 随后从缓苗期到伸根期再一次急剧增加并维持在一个较高水平。

很多病原菌由于环境、宿主植物生长期等各种因素的共同作用, 可以在宿主植物体内大量存在, 但并不导致植物发病。这些弱致病性的病原菌在植物体内占据了一定的生态位, 与宿主建立了一定的协同关系, 已从外源菌转变为植物内生菌。随着内生菌概念的发展, 现在越来越多的学者认为这类致病菌也应属于内生菌的范畴。Harvey 等发现田间种植的烟草叶片内生真菌的主要类群为链格孢菌属 (*Alternaria*)、青霉菌属 (*Penicillium*)、曲霉属 (*Aspergillus*) 和枝孢菌属 (*Cladosporium*)<sup>[29]</sup>。链格孢菌属可引起多种经济植物病害, 如马铃薯早疫病、葱紫斑病、白菜黑斑病等, 同时也是烟草赤星病病原, 在环境条件有利于发病情况下, 短时间内可大面积蔓延, 引起烟草赤星病的暴发、流行, 造成毁灭性危害<sup>[30]</sup>。枝孢菌属又名褐孢霉属, 它不仅能够导致叶斑从而影响叶片光合作用, 而且还会感染茎秆和果实, 如由瓜枝孢真菌 (*Cladosporium cucumerinum*) 引起的黄瓜黑星病, 以及由叶霉菌真菌 (*Cladosporium fulvum*) 引起的番茄叶霉病等。病害常由下部叶片发病, 逐渐向上蔓延, 直至整株植物枯死<sup>[31-32]</sup>。李文君等<sup>[33]</sup>在云南大理烟区开展研究发现烟叶内生菌的主要类群为链格孢菌属和镰孢属 (*Fusarium*)。镰孢属真菌是常见的土壤习居菌, 是

多种植物的病原菌, 如尖孢镰刀菌即为烟草根腐病的致病菌, 导致烟草萎焉、枯死。这些烟草叶部的内生真菌在宿主植物的特定生长阶段并不引起宿主植物的病害, 但能够大量存在并随烟草叶片的生长而不断增加数量<sup>[29]</sup>, 因而也归于烟草内生菌。

有研究表明烟草也能与一类专性共生土壤真菌——丛枝菌根真菌 (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 建立共生体系。菌根共生体通过直接或间接的方式影响植物矿质营养和生长发育过程, 在植物逆境生理中有着重要的作用。丛枝菌根不仅能促进植物对多种矿质元素的吸收<sup>[34]</sup>, 还可以增强植物抵抗病原菌侵染、干旱胁迫、盐分胁迫、重金属污染等各种生物及非生物胁迫的能力<sup>[35-40]</sup>。方宇澄等<sup>[41]</sup>于 1986 年首次研究了我国烟草 AM 真菌的状况并对其进行了分离、鉴定, 结果发现球囊霉属 (*Glomus*)、巨孢囊霉属 (*Gigaspora*)、无轴孢囊霉属 (*Acaulospora*) 均可与烟草形成稳定的共生结构, 并可以提高烟草的产量和质量。进一步研究表明球囊霉属中的近明球囊霉 (*Glomus claroideum*) 和摩西球囊霉 (*Glomus mosseae*) 的对烟草增产和提高品质的效果显著优于其他供试菌种, 因而推荐应用于烟草栽培<sup>[42]</sup>。

## 2 烟草内生菌的功能与应用

烟草内生菌资源丰富, 长期存在于宿主植物体内并与宿主协同进化。一方面, 烟草为内生菌提供生长必需的能量和营养; 另一方面, 内生菌通过自身的代谢产物或借助于信号传导作用对烟草生理代谢产生影响。根据已有研究报道, 烟草内生菌在烟草栽培和生产中主要有以下功能和应用。

### 2.1 促生作用

烟草内生菌最重要的功能就是对烟草的促生作用, 王万能等<sup>[43]</sup>从烟草中分离得到的 118 号菌株对烟草有促生效果, 接菌后烟草鲜重增加 13.10%。杨友才等<sup>[44]</sup>研究利用烟草内生菌防治烟草根结线虫病时发现, 经由内生菌 H1、H3、K6、Y12 处理过的烟草株高、叶长、茎围和鲜重均显著优于对照

处理, 即对烟草植株地上部分的生长有明显的促进作用。陈泽斌等<sup>[45]</sup>通过培养皿发芽试验, 从 127 株烟草内生细菌中初步筛选出 4 株能提高烟草种子发芽率、根长、根体积的内生细菌, 并对这 4 个菌株进行了漂浮育苗试验复筛, 发现它们对烟苗的生长具有明显促进作用, 其中促生作用最好的 wy2 菌株使烟苗茎直径增加了 33.3%, 根长增加了 49.2%, 与对照相比差异显著。汪莹等<sup>[46]</sup>的研究同样发现烟草内生细菌 Itb57 和 Itb295 对烟草幼苗有显著的促生作用。研究表明, 烟草内生菌的促生作用主要是通过促进烟草吸收矿质养分, 直接产生或刺激烟草产生植物生长激素类物质等途径实现。

**2.1.1 促进烟草吸收矿质养分:** 内生菌帮助植物吸收矿质养分最典型的例子就是内生固氮菌, 如 Saito 等发现梭状芽孢杆菌(*Clostridium* sp.) 广泛存在于烟草体内, 因其含有大量的固氮酶<sup>[47]</sup>, 故可在烟草体内发挥固氮作用, 为烟草提供无机氮源, 进而提高烟叶的产量和品质。Chi 等研究发现烟草中含有巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*), 这种固氮螺菌还可以在烟草的根、茎、叶中迁移, 即在烟草不同的部位发挥作用<sup>[48]</sup>。Spaepen 等研究发现巴西固氮螺菌可通过改变宿主植物根系形态、分布及根系活力影响宿主对土壤中氮素的吸收和转化<sup>[49]</sup>。氮素的增加不仅保证了烟草充足的养分供应, 同时也能促进糖代谢相关酶的活性, 如蔗糖合成酶(SS)和蔗糖磷酸合成酶(SPS), 进而增加烟叶中碳水化合物的代谢, 而且氮营养也显著影响烟株的抗病害能力<sup>[50-51]</sup>。近年来, 相关学者开始关注 AM 真菌对氮素的吸收、同化和传输机制。研究表明, AM 根外菌丝可以从土壤中吸收不同形态的氮素<sup>[52]</sup>。此外, AM 真菌还可以吸收利用有机氮, 如尿素、Gly、Gln 和 Glu 等, 其中吸收尿素和  $\text{NH}_4^+$  比其他氮源速率更快。菌根真菌吸收 N 后往往是先将 N 整合入有机 N 载体——氨基酸, 再以氨基氮的形式向植物输送。同时, AM 真菌可通过扩大根系吸收表面积、活化土壤有机磷及难溶性无机磷, 将磷以聚磷酸盐颗粒形式向宿主

植物的根部输送, 从而有效提高植物对磷的获取能力。贺学礼、刘江等<sup>[53-54]</sup>研究发现接种 AM 真菌, 不仅能提高烟草对 N、P、K 等矿质元素的吸收, 而且这种吸收效果甚至优于直接喷施高浓度液态肥料的效果。

**2.1.2 产生植物生长调节剂:** 内生菌自身可产生或刺激植物产生生长激素类物质。研究发现烟草中的巴西固氮螺菌具有生成植物生长激素吲哚乙酸(IAA)的基因<sup>[48]</sup>, 可合成 IAA。在细胞水平上, IAA 可刺激形成层细胞分裂和细胞伸长, 从而促进烟草的生长。广泛存在于烟草内的假单胞杆菌属、芽孢杆菌属、肠杆菌属中的一些菌株也可产生植物生长调节素如生长素、乙烯、细胞激动素等<sup>[55]</sup>。此外, AM 真菌也可显著影响多种植物激素含量。Van Rhijn 等<sup>[56]</sup>研究发现菌根植物根部和茎叶能大量积累 CTK, 引起细胞分裂, 诱导芽的形成和促进芽的生长。Barea 等<sup>[57]</sup>研究证明 AM 真菌的菌丝能产生细胞分裂素和赤霉素类物质。然而, 目前 AM 真菌尚不能进行纯培养, 无法证实其离体条件下是否可以合成植物生长激素类物质。接种 AM 真菌可提高植物体内一些内源激素含量, 但增加的这些激素含量是 AM 真菌自身合成的, 还是它们刺激植物增加合成的, 亦或两种作用兼有, 尚待进一步深入研究。

## 2.2 防治病虫害

随着生物防治技术的发展, 利用内生菌进行植物病虫害的防治越来越受到植物学家、植物病理学家、微生物学家以及生态学家的广泛关注和重视<sup>[58-59]</sup>。与此同时, 烟草内生菌在病虫害防治中的作用也得到前所未有的关注。奚家勤等<sup>[60]</sup>在烤烟品种 K326 叶片中分离出内生细菌 ZY-9-13 菌株, 对烟草黑胫病菌(*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*)、香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*)、腐皮镰孢菌(*F. solani*)、黄瓜枯萎病菌(*F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*)、小麦赤霉病菌(*Gibberella sanbinetti*)和立枯丝核病菌(*Rhizoctonia solani*)均有拮抗作用, 表现对真菌病原菌的广谱

抗菌活性。显微观察表明 ZY-9-13 菌株能使真菌病原菌菌丝和孢子畸形、膨大和滞育。这可能是由于 ZY-9-13 能够产生某些次生代谢产物或促使植物产生系统诱导性抗性(Systemic induced resistance, SIR)而破坏病原菌的形态及生理特性。Press 等<sup>[61-62]</sup>同样也发现接种烟草内生菌 *Serratia marcescens* 90-166 可提高烟草的系统诱导性抗性, 从而增强烟草对野火病病原细菌(*Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci*)的抵抗能力。Yuan 等<sup>[63]</sup>在研究茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起烟草青枯病时发现, 烟草接种内生菌芽孢杆菌属中的 *Bacillus amyloliquefaciens* SQR-7、SQR-101 和 *B. methylotrophicus* SQR-29 时, 不仅表现出对青枯病病原菌极大的拮抗特性还能够产生 IAA 和铁载体(Siderophores)。IAA 能够有效地促进植物生长并影响植物的生理代谢, 而铁载体能够与土壤中的铁离子螯合, 使植物病原菌缺乏铁营养而不能生长繁殖, 即烟草内生菌通过产生植物生长调节剂和竞争病原菌的营养而抑制其生长。病原菌和内生菌的生长都依赖植物提供能量和营养, 两者通常形成营养竞争的关系, 内生菌的大量存在可与病原菌竞争空间、营养或直接产生拮抗类物质抑制病原菌生长, 这也是内生菌对宿主植物的一种间接促生作用。

烟草根结线虫病是由根结线虫侵入烟株根部而引起的, 我国除黑龙江、辽宁等省外, 各烟区均有发生, 且其危害有愈来愈严重的趋势。利用烟草内生菌进行根结线虫的防治也得到了相关试验的验证, Liu 等<sup>[64]</sup>从烟草叶片中分离出了杀线虫鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium nematocida*)菌株, 可以有效地抑制线虫对烟草的危害。杨友才等<sup>[44]</sup>从烟草中筛选到几株内生菌进行防治根结线虫的盆栽试验, 结果表明内生细菌和内生放线菌都可以有效降低根结线虫的病情指数, 但内生细菌发酵液的防治效果优于内生细菌菌体, 内生放线菌则相反。郝志鹏等<sup>[65]</sup>研究发现丛枝菌根真菌能够促进植物产生局部和系统诱导抗性来抵抗线虫对宿主植物的危害。

这也为丛枝菌根真菌在烟草线虫防治中的应用奠定了基础。

## 2.3 降低亚硝胺(N-nitrosamines, TSNA)类物质的含量

烟草特有亚硝胺-TSNA (Tobacco-specific nitrosamines)因其强致癌性而引起人们广泛关注, 降低烟草中亚硝胺含量已成为亟待解决的问题。研究表明多种烟草内生菌都可降低亚硝胺类物质的含量。雷丽萍等<sup>[66]</sup>从白肋烟 TN90 的主脉组织中分离出一株内生菌株 WT, 喷施内生菌悬液于烟草表面后检测发现, WT 可减少白肋烟 TN90 中 TSNA 含量, 其中叶片组织中 TSNA 含量减少 21.7%–44.6%, 主脉组织中 TSNA 减少 16.7%–80.0%, 后经鉴定 WT 为芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)。祝明亮等<sup>[67]</sup>从两个烟草品种的 30 个样品中分离到 33 株内生细菌, 并选出 6 株还原硝酸盐和亚硝酸能力较强的菌株, 通过阻断亚硝酸盐类物质与胺类物质亚硝基化反应, 从而显著降低烟草内 TSNA 的含量。Sherameti 等发现烟草内生真菌印度梨形孢(*Piriformospora indica*)可以刺激硝酸还原酶相关基因的表达, 减少硝酸盐类物质的产生<sup>[68]</sup>, 随着硝酸盐类物质的减少, 阻断了与胺类物质的亚硝基化反应, 从而间接降低了烟草内 TSNA 的含量。由于 TSNA 主要是在烟草采收后期的晾晒、调制、陈化、燃吸等过程中通过烟碱和其他烟草生物碱的亚硝化作用形成和积累起来的, 所以通过减少烟草生物碱类物质的含量也成为降低 TSNA 的主要途径。研究发现, 假单胞杆菌(*Pseudomonas* spp.)和节杆菌(*Arthrobacter* spp.)可以通过生物降解作用减少烟草内烟碱含量<sup>[69]</sup>, 进而降低烟草内 TSNA 的含量。除此之外, 其他学者也相继发现烟草接种内生细菌根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)可以有效降低亚硝胺含量<sup>[70]</sup>。

## 2.4 其他方面的应用

烟草内生菌除以上重要作用, 近年来相关研究表明其在提高烟草重金属耐受性和污染环境修复方面也有积极作用。Mastretta 等<sup>[71]</sup>从烟草种子中分

离出多株内生细菌,包括肠杆菌(*Enterobacter* sp.)、黄单胞杆菌(*Xanthomonas campestris*)、假单胞杆菌(*Pseudomonas* sp.)和血杆菌(*Sanguibacter* sp.)等,通过接种试验发现这些内生菌不仅可以促进烟草的生长,还能提高烟草对高浓度 Cd 的耐受性。假单胞杆菌是烟草中广泛存在的内生细菌,近年来越来越多的被用于多氯联苯(Polychlorinated biphenyls, PCBs)污染土壤修复<sup>[72-73]</sup>。Ionescu 等<sup>[74]</sup>在研究长期被 PCBs 污染的垃圾场土壤时发现,烟草与假单胞杆菌可联合修复被 PCBs 污染的土壤,将环境中的污染物降解或转化为其他无害物质。

### 3 问题与展望

烟草内生菌种类丰富,是重要的内生菌资源库,其应用主要有两条途径:其一为直接应用,即内生菌进入宿主植物体内并发挥作用;其二为间接应用,即不直接使用内生菌菌株,而是在试验条件下进行内生菌的发酵以此来生产具有药用价值的抗生素、免疫抑制剂、抗真菌剂和抗癌药物等。

内生菌进入烟草内部发挥作用,促进烟草生长,提高烟草的抗逆性主要是通过改变烟草自身的细胞结构、诱导相关蛋白的合成、调控抗逆基因或防御相关基因的表达、促进次生代谢产物如萜类物质、酚类物质以及生物碱等的合成与传递等途径来发挥作用。当然内生菌在烟草中发挥作用的机制是多方面的,它取决于烟草、内生菌和外界环境的相互作用。目前,相关机制研究还不完善,很多问题没有一致的解释。如在内生菌提高烟草抗病性机制方面,有多种信号物质产生,但是各个信号物质之间的联系、诱导顺序以及一系列抗病基因表达过程等仍不明确,这仍需要进一步系统深入的研究与探索。

在内生菌的间接应用方面,如何在植物体外利用内生菌生产具有药用价值的抗生素、免疫抑制剂、抗真菌剂和抗癌药物并将之应用于农业与医药行业,将成为极具前景的研究课题。随着内生菌发酵产业的兴起,已合成了一部分具有活性的代谢产

物,但依然有众多问题亟待解决,如仍有大量的活性物质无法合成,还需要进一步优化反应条件;发酵产业伴随严重的环境污染问题,如何实现高药性、低毒性的生产,仍需进一步探索。在生产内生菌活性物质的同时也应积极探索其在宿主植物上发挥最大效应的条件,尽量做到在生产和使用环节中都达到最优效果。再者,还应积极寻找新的内生菌种类,扩大内生菌资源库,为新药剂的生产提供坚实的材料基础,但近年来在关注分子技术鉴定内生菌的同时却忽视了形态学、解剖学等传统鉴别内生菌的方法,导致很多新的内生菌有名无实的尴尬,这也应引起相关学者的充分重视。

### 参考文献

- [1] De Bary A. Morphologic und physiologie der pilze, flechten und myxomyceten[A]//Handbuch der Physiologischen Botanik, II.[M]. Leipzig: Engelmann, 1866
- [2] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew[J]. Science, 1993, 260(5105): 214-216
- [3] Yu H, Zhang L, Li L, et al. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes[J]. Microbiological Research, 2010, 165(6): 437-449
- [4] Song S. Identification of physiological race of *Erysiphe cichoracearum* DC in Shaanxi and screening prevention research[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2013 (in Chinese)  
宋双. 陕西省烟草白粉病生理小种鉴定及其防治研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2013
- [5] Feng MJ. Extraction, separation and content analysis of effective components in discarded tobacco[D]. Xi'an: Master's Thesis of Northwest University, 2008 (in Chinese)  
逢敏洁. 烟草废弃物中茄尼醇等有效成分的提取分离与含量分析[D]. 西安: 西北大学硕士学位论文, 2008
- [6] Zhang Y, Yang TX. Comprehensive utilization of discarded tobacco in solid state fermentation system[J]. Tobacco Science & Technology, 2000, 7: 5-7 (in Chinese)  
张怡, 杨天雪. 废次烟草作为载体的固态发酵体系中的综合利用[J]. 烟草科技, 2000, 7: 5-7
- [7] Stone JK, Bacon CW, White JF. An overview of endophytic microbes: endophytism defined[J]. Microbial Endophytes, 2000, 3: 29-33
- [8] Strobel G, Daisy B, Castillo U, et al. Natural products from endophytic microorganisms[J]. Journal of Natural Products, 2004, 67(2): 257-268
- [9] Durán P, Acuña JJ, Jorquera MA, et al. Endophytic bacteria from selenium-supplemented wheat plants could be useful for plant-growth promotion, biofortification and *Gaeumannomyces graminis* biocontrol in wheat production[J]. Biology and Fertility of Soils, 2014, 50: 983-990
- [10] Szilagyi-Zecchin VJ, Ikeda AC, Hungria M, et al. Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture[J]. AMB

- Express, 2014, 4(1): 26
- [11] Yang P, Sun Z, Liu S, et al. Combining antagonistic endophytic bacteria in different growth stages of cotton for control of *Verticillium wilt*[J]. Crop Protection, 2013, 47: 17-23
  - [12] Pageni BB, Lupwayi NZ, Akter Z, et al. Plant growth-promoting and phytopathogen-antagonistic properties of bacterial endophytes from potato (*Solanum tuberosum* L.) cropping systems[J]. Canadian Journal of Plant Science, 2014, 94(5): 835-844
  - [13] Magnani GS, Cruz LM, Weber H, et al. Culture-independent analysis of endophytic bacterial communities associated with Brazilian sugarcane[J]. Genetics and Molecular Research, 2013, 12(4): 45-49
  - [14] Lan N, Qi GF, Yu ZN, et al. Isolation, identification and anti-fungal action of endophytic fungi of rapeseed[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2011, 30(3): 270-275 (in Chinese)  
兰楠, 祁高富, 喻子牛, 等. 油菜内生真菌的分离鉴定及抑菌作用[J]. 华中农业大学学报, 2011, 30(3): 270-275
  - [15] Xu H, Yang GH, Zhang M, et al. Analysis of diversity of endophytes and phyllospheric microorganism from Yunnan tobacco leaves[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science Edition), 2014, 2: 149-154 (in Chinese)  
徐慧, 杨根华, 张敏, 等. 云南烟草叶片内生及叶际细菌, 真菌多样性研究[J]. 云南农业大学学报: 自然科学版, 2014, 2: 149-154
  - [16] Germida J, Siciliano S. Taxonomic diversity of bacteria associated with the roots of modern, recent and ancient wheat cultivars[J]. Biology and Fertility of Soils, 2001, 33(5): 410-415
  - [17] Chen LJ. Biodiversity of endophytes from oilseed rape (*Brassic napus*) and fluctuation in their host[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2004 (in Chinese)  
陈利军. 油菜内生菌生物多样性及其在宿主体内消长动态研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2004
  - [18] Hao L, Hu MJ, Ma HL, et al. Isolation and identification of endophytic actinomycetes from *Sophora alopecuroides* L.[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2011, 32(2): 18-21 (in Chinese)  
郝丽, 胡美娟, 马海龙, 等. 宁夏干旱荒漠区苦豆子内生放线菌的分离鉴定[J]. 农业科学研究, 2011, 32(2): 18-21
  - [19] Sturz AV, Christie BR, Nowak J. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2000, 19(1): 1-30
  - [20] Ren AZ, Gao YB. Endophytic fungi—a wide prospect of application of microorganism resource[J]. Microbiology China, 2001, 6: 90-93 (in Chinese)  
任安芝, 高玉葆. 植物内生真菌——一类应用前景广阔的资源微生物[J]. 微生物学通报, 2001, 6: 90-93
  - [21] Stone JK, Bacon CW, White JF. An overview of endophytic microbes: endophytism defined[J]. Microbial Endophytes, 2000, 3: 29-33
  - [22] White JF, Bacon CW. The secret world of endophytes in perspective[J]. Fungal Ecology, 2012, 5(3): 287-288
  - [23] Ma GH, Xiao CG. Population dynamics of endophytic bacteria in symptom-free tobacco plants[J]. Journal of Microbiology, 2004, 24(4): 7-11 (in Chinese)  
马冠华, 肖崇刚. 烟草内生细菌种群动态研究[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(4): 7-11
  - [24] Yunan Academy of Tobacco Science. Biodiversity of endophytes in tobacco[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2013, 1: 101 (in Chinese)  
云南省烟草农业科学研究院. 烟草内生菌研究与应用[J]. 中国烟草学报, 2013, 1: 101
  - [25] Fei ZY. Studies of population diversity on endophytic fungi of tobacco and selection of biocontrol endophyte to tobacco brown spot disease[D]. Zhengzhou: Master's Thesis of Henan Agricultural University, 2009 (in Chinese)  
裴洲洋. 烟草内生真菌种群多样性及烟草赤星病防内生菌的筛选[D]. 郑州: 河南农业大学硕士学位论文, 2009
  - [26] Rasche F, Velvis H, Zachow C, et al. Impact of transgenic potatoes expressing anti-bacterial agents on bacterial endophytes is comparable with the effects of plant genotype, soil type and pathogen infection[J]. Journal of Applied Ecology, 2006, 43(3): 555-566
  - [27] Andrews JH. Biological control in the phyllosphere[J]. Annual Review of Phytopathology, 1992, 30(1): 603-635
  - [28] Huang XH, Yang YC, Tan Zj, et al. Distribution characteristic of endophytic microbes in four different tobacco species[J]. Acta Ecology Sinica, 2009, 29(12): 6827-6833 (in Chinese)  
黄晓辉, 杨友才, 谭周进, 等. 四个品种烟草内生微生物的分布特征[J]. 生态学报, 2009, 29(12): 6827-6833
  - [29] Harvey W, Spurr Jr WRE. Characterization of endophytic fungi in healthy leaves of *Nicotiana* spp.[J]. Phytopathology, 1975, 65: 417-422
  - [30] Yi L, Xiao HG. Advances in studies on control of tobacco brown spot[J]. Plant Protection, 2003, 29(5): 10-14 (in Chinese)  
易龙, 肖崇刚. 烟草赤星病防治研究进展[J]. 植物保护, 2003, 29(5): 10-14
  - [31] Kang HX. Fine mapping, map-based cloning of cucumber scab resistance gene *Ccu* and expression profiling of *Cucurbit-Cladosporium cucumerinum* interaction[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Science, 2011 (in Chinese)  
康厚祥. 黄瓜抗黑星病基因 *Ccu* 的精细定位与图位克隆及黄瓜与黑星菌互作的表达谱分析[D]. 北京: 中国农业科学院博士学位论文, 2011
  - [32] Zhu L. Application of the extraction of *Dictamnus dasycarpus* Turcz. On control of *Fulvia fulva* and its exploration on insecticidal activity[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2011 (in Chinese)  
朱琳. 白鲜皮提取液在番茄叶霉病防治中的应用及其杀虫活性初探[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2007
  - [33] Li WJ, Qian ZQ, Jin R, et al. Diversity and distribution characteristics of endophytic fungi in *Nicotiana tabacum* in Dali District, Yunnan Province[J]. Microbiology China, 2013, 40(5): 783-791 (in Chinese)  
李文君, 钱正强, 金蕊, 等. 云南大理烟区烟叶内生真菌多样性及分布特征[J]. 微生物学通报, 2013, 40(5): 783-791
  - [34] Smith SE, Smith FA. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales[J]. Annual Review of Plant Biology, 2011, 62: 227-250
  - [35] Douds Jr DD, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y. Application of *in vitro* methods to study carbon uptake and transport by AM fungi[J]. Plant and Soil, 2000, 226(2): 255-261
  - [36] Li T, Hu YJ, Hao ZP, et al. First cloning and characterization of two functional aquaporin genes from an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*[J]. New Phytologist, 2013, 197(2): 617-630
  - [37] Chen BD, Zhu YG, Duan J, et al. Effects of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and metal uptake by four plant species in copper mine tailings[J]. Environmental Pollution, 2007, 147 (2): 374-380
  - [38] Sheng M, Tang M, Chen H, et al. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress[J]. Mycorrhiza, 2008, 18: 287-296
  - [39] Chen BD, Li XL, Zhu YG. Characters of metal adsorption by AM fungi mycelium[J]. Mycosystema, 2005, 2: 283-291 (in

- Chinese)  
陈保冬, 李晓林, 朱永官. 丛枝菌根真菌菌丝体吸附重金属的潜力及特征[J]. 菌物学报, 2005, 2: 283-291
- [40] Wang G, Chen N, Gao XR, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal on tobacco growth[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2012, 17(6): 100-103 (in Chinese)  
王刚, 陈楠, 高蕊蕊, 等. 丛枝菌根(AM)对烟草的作用研究[J]. 中国烟草学报, 2012, 17(6): 100-103
- [41] Fang YC, Liu YR, Fang R. The isolation and identification of endomycorrhizal fungi on tobacco[J]. Acta Mycological Sinica, 1986, 5(3): 185-190 (in Chinese)  
方宇澄, 刘延荣, 方榕. 烟草内生菌根真菌的分离鉴定[J]. 真菌学报, 1986, 5(3): 185-190
- [42] Liu YR, Fang YC. The selection of effective VAM fungi from mycorrhizae on tobacco roots[J]. Journal of Shangdong Agricultural University (Natural Science Edition), 1997, 28(3): 269-274 (in Chinese)  
刘延荣, 方宇澄. 烟草上优良 VA 菌根真菌的筛选[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 1997, 28(3): 269-274
- [43] Wang WN, Quan XJ, Xiao CG. The disease-controlling and growth-promoting effects of endophytic bacteria in tobacco[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006, 22(4): 426-431 (in Chinese)  
王万能, 全学军, 肖崇刚. 烟草内生细菌防治烟草黑胫病及促生作用研究[J]. 植物学通报, 2006, 22(4): 426-431
- [44] Yang YC, Huang XH, Gong Li, et al. Controlling effects of tobacco endophyte against tobacco root-knot nematode disease[J]. Chinese Journal of Ecology, 2009, 11: 2269-2272 (in Chinese)  
杨友才, 黄晓辉, 龚理, 等. 烟草内生菌对烟草根结线虫病的防治效果[J]. 生态学杂志, 2009, 11: 2269-2272
- [45] Chen ZB, Yang YH, Xia ZY, et al. Screening of growth-promoting endophytic bacteria in tobacco and its application in floating seedling practice[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2013, 1: 70-75 (in Chinese)  
陈泽斌, 杨跃华, 夏振远, 等. 烟草内生促生细菌的筛选及在漂浮育苗中的应用效果[J]. 中国烟草学报, 2013, 1: 70-75
- [46] Wang Y, Li XS, Hu JX, et al. Determination of growth-promotion and antifungal effects of endophytic bacteria strains Itb57 and Itb295 of tobacco[J]. Journal of Anhui Agri, 2011, 11: 6426-6427 (in Chinese)  
汪莹, 李小松, 胡建新, 等. 烟草内生细菌 Itb57 和 Itb295 菌株的促生与抑菌作用测定[J]. 安徽农业科学, 2011, 11: 6426-6427
- [47] Saito A, Kawahara M, Ikeda S, et al. Broad distribution and phylogeny of anaerobic endophytes of cluster XIVa clostridia in plant species including crops[J]. Microbes and Environments, 2007, 23(1): 73-80
- [48] Chi F, Shen SH, Chen SF, et al. Migration of *Azospirillum brasilense* Yu62 from root to stem and leaves inside rice and tobacco plants[J]. Acta Botanica Sinica-English Edition, 2004, 46(9): 1065-1070
- [49] Spaepen S, Vanderleyden J, Okon Y. Plant growth-promoting actions of rhizobacteria[J]. Advances in Botanical Research, 2009, 51: 283-320
- [50] Yang YH, Zhao ZX, Li CJ, et al. Effects of nitrogen fertilization on carbohydrate content and related metabolic enzymes of flue-cured tobacco in paddy field and highland[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2009, 6: 1386-1394 (in Chinese)  
杨宇虹, 赵正雄, 李春俭, 等. 不同氮形态和氮水平对水田与旱地烤烟烟叶糖含量及相关酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 6: 1386-1394
- [51] Zhao F, Zhao ZX, Xu FH, et al. Effects of nitrogen application rate on physiology of flue-cured tobacco plants with or without inoculation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* and the severity of black shank[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2011, 3: 737-743 (in Chinese)  
赵芳, 赵正雄, 徐发华, 等. 施氮量对烟株接种黑胫病前, 后体内生理物质及黑胫病发生的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 3: 737-743
- [52] Veresoglou SD, Chen BD, Rillig MC. Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 46: 53-62
- [53] Liu J, Huang XY. The tobacco yield and quality were influenced by VA mycorrhizal at different phosphate fertilizer levels[J]. Journal of Yunnan University (Natural Science Edition), 1999, 21(3): 239-242 (in Chinese)  
刘江, 黄学跃. VA 菌根真菌在不同磷肥水平下对烟叶产质量的影响[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 1999, 21(3): 239-242
- [54] He XL, Sun W. Effects of AM fungi on the K accumulation and distribution in tobacco plant under different K levels[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2003, 9(1): 81-84 (in Chinese)  
贺学礼, 孙渭. AM 真菌和施钾量对烟草植株钾毒累积和分布的交互效应[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(1): 81-84
- [55] Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF, et al. Bacterial endophytes in agricultural crops[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1997, 43(10): 895-914
- [56] Van Rhijn P, Fang Y, Galili S, et al. Expression of early nodulin genes in alfalfa mycorrhizae indicates that signal transduction pathways used in forming arbuscular mycorrhizae and Rhizobium-induced nodules may be conserved[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1997, 94(10): 5467-5472
- [57] Barea JM, Azcón-Aguilar C. Production of plant growth-regulating substances by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1982, 43(4): 810-813
- [58] Zhang S, Reddy MS, Kloepper JW. Tobacco growth enhancement and blue mold disease protection by rhizobacteria: relationship between plant growth promotion and systemic disease protection by PGPR strain 90-166[J]. Plant and Soil, 2004, 262(1/2): 277-288
- [59] Lodewyckx C, Vangronsveld J, Porteous F, et al. Endophytic bacteria and their potential applications[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2002, 21(6): 583-606
- [60] Xi JX, Lin BL, Mo MH, et al. Identification of tobacco endophytic bacterium ZY-9-13 and its antifungal activities against phytopathogens[J]. Southwest China Journal of Agricultural Science, 2013, 26(2): 612-616 (in Chinese)  
奚家勤, 林碧莲, 莫明和, 等. 烟草内生细菌 ZY-9-13 菌株的鉴定及其对植物病原真菌的拮抗性[J]. 西南农业学报, 2013, 26(2): 612-616
- [61] Press CM, Wilson M, Tuzun S, et al. Salicylic acid produced by *Serratia marcescens* 90-166 is not the primary determinant of induced systemic resistance in cucumber or tobacco[J]. Molecular Plant-microbe Interactions, 1997, 10(6): 761-768
- [62] Press CM, Loper JE, Kloepper JW. Role of iron in rhizobacteria-mediated induced systemic resistance of cucumber[J]. Phytopathology, 2001, 91(6): 593-598
- [63] Yuan S, Wang L, Wu K, et al. Evaluation of *Bacillus*-fortified organic fertilizer for controlling tobacco bacterial wilt in greenhouse and field experiments[J]. Applied Soil Ecology, 2014, 75: 86-94
- [64] Liu J, Yang LL, Xu CK, et al. *Sphingobacterium nematocida* sp. a nematocidal endophytic bacterium isolated from tobacco[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, 62: 1809-1813
- [65] Hao ZP, Fayolle L, van Tuinen D, et al. Local and systemic

- mycorrhiza-induced protection against the ectoparasitic nematode *Xiphinema index* involves priming of defence gene responses in grapevine[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63: 3657-3672
- [66] Lei LP. Reduction of tobacco specific nitrosamine in air-cured tobacco leaves by a bacterial endophyte (*Bacillus* sp.) [J]. Southwest China Journal of Agricultural Science, 2007, 20(3): 515-520 (in Chinese)  
雷丽萍. 烟草内生芽孢杆菌降低烟叶亚硝胺类物质含量的研究[J]. 西南农业学报, 2007, 20(3): 515-520
- [67] Zhu ML, Li TF, Wang AY. Isolation and identification of endophytic bacteria in Burley Tobacco and reduction to TSNA contents of Burley Tobacco[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2004, 44(4): 422-426 (in Chinese)  
祝明亮, 李天飞, 汪安云. 白肋烟内生细菌的分离鉴定及降低 N-亚硝胺含量研究[J]. 微生物学报, 2004, 44(4): 422-426
- [68] Sherameti I, Shahollari B, Venus Y, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and Arabidopsis roots through a homeodomain transcription factor that binds to a conserved motif in their promoters[J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(28): 26241-26247
- [69] Lei L, Xia Z, Liu X, et al. Occurrence and variability of tobacco rhizosphere and phyllosphere bacterial communities associated with nicotine biodegradation[J]. Annals of Microbiology, 2014. DOI: 10.1007/s13213-014-0847-6
- [70] Wang AY, Huang Q. Studies on isolation, identification and characteristics of reducing TSNA contents of burley tobacco endophytic bacteria[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2006, 26(1): 1914-1920 (in Chinese)  
汪安云, 黄琼. 一株降低烟草中特有亚硝胺细菌的分离鉴定及特性研究[J]. 环境科学学报, 2006, 26(1): 1914-1920
- [71] Mastretta C, Taghavi S, van der Lelie D, et al. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity[J]. International Journal of Phytoremediation, 2009, 11(3): 251-267
- [72] Narasimhan K, Basheer C, Bajic VB, et al. Enhancement of plant-microbe interactions using a rhizosphere metabolomics-driven approach and its application in the removal of polychlorinated biphenyls[J]. Plant Physiology, 2003, 132(1): 146-153
- [73] Khan AA, Walia SK. Expression, localization, and functional analysis of polychlorinated biphenyl degradation genes cbpABCD of *Pseudomonas putida*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(5): 1325-1332
- [74] Ionescu M, Beranova K, Dudkova V, et al. Isolation and characterization of different plant associated bacteria and their potential to degrade polychlorinated biphenyls[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2009, 63(6): 667-672

## 征订启事

### 欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年, 是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办, 国内外公开发行, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 基础微生物学研究, 农业微生物学研究, 工业微生物学研究, 医学微生物学研究, 食品微生物学研究, 环境微生物学研究, 微生物功能基因组研究, 微生物蛋白组学研究, 微生物模式菌株研究, 微生物工程与药物研究, 微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国自然科学核心期刊。曾获国家优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 北京优秀科技期刊奖, 被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自 2008 年本刊已经全新改版, 由双月刊改为月刊, 发表周期缩短, 内容更加丰富详实。欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买, 2015 年每册定价 58 元, 全年 696 元, 我们将免邮费寄刊。

邮购地址: (100101) 北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所 《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/WSWXTBCN>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: M413