

植物内生菌资源

姜 怡^{1,2} 杨 颖¹ 陈华红¹ 李文均¹ 徐丽华^{1*} 刘志恒³

(教育部微生物资源重点实验室, 微生物药物国家工程研究中心, 云南省微生物研究所,

云南大学 昆明 650091)¹

(Leibniz - Institut für Meereswissenschaften an der Universität Kiel, Düsternbrooker Weg 20, D - 24105 Kiel, Germany)²

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)³

摘要: 植物内生菌是一类重要的微生物资源, 近年来成为微生物资源研究的热点之一。对内生菌的多样性和开发利用的研究进展以及值得研究的问题等方面进行评述。

关键词: 植物内生菌, 多样性, 开发利用, 值得研究的问题

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 06-0146-02

植物内生菌是指其生活史的一定阶段生活在活体植物组织内、又不引起植物明显病害的微生物。自从 1886 年, Bary 提出内生菌概念以后的大约 100 年间, 内生菌的研究进展缓慢。直到 1993 年, Strobel^[1] 从短叶紫杉 (*Taxus brevifolia*) 分离到一株内生真菌, 它能产生与宿主植物产生同一产物的肿瘤治疗剂紫杉醇, 启发了人们可以从植物内生菌寻找植物产生的相同或相似的化合物, 扩大了药用微生物资源的范围, 从而刺激了植物内生菌的研究。最近几年相关报道很多, 这里从微生物资源的角度作简要评述。

1 内生菌的多样性

内生真菌广泛分布于低等植物和高等植物。已经从几百种禾本科植物, 上千种双子叶、单子叶植物分离到内生真菌。每种植物分离到的内生真菌数量不等, 有的植物能分离到几种内生真菌, 有的则多达 60 多种。我们从云南 320 种植物分离到真菌 811 株。比较常见的内生菌是子囊菌类。用一般方法很容易从植物的各种组织分离到内生真菌, 通常以植物的根部、叶鞘、种子内生真菌较多。

大家熟知的内生放线菌是弗兰克氏菌 (*Frankia*), 它们至少能与 14 个科 300 多种非豆科植物共生。近些年来, 从植物发现了大量的其它内生放线菌。Taechowisan 等^[2] 从 12 个科 31 种植物的叶子分离到 97 株放线菌, 出菌率占样品总数的 71%; 从茎分离到 21 株, 出菌率占 30%; 从根分离到 212 株, 占 80%, 可见, 从根部分离到的内生放线菌最多, 从 *Alpinia galanga* 的根部就分离到 41 株放线菌; 从 *Zingiber officinale* 植物的根、茎、叶分离到放线菌多达 81 株; 在分离到的 330 株放线菌中, 链霉菌占 90% 以上, 其余是 *Microbispora*, *Nocardia*, *Micromonospora* 和未鉴定的菌株。从云南 230 多种植物分离到 320 株放线菌, 其中 90% 以上也是链霉菌。Coombs 等^[3] 从小麦根部分离到 58 株放线菌, 其中 51 株链霉菌, 4 株 *Micromonospora*, 1 株 *Nocarioides*, 1 株 *Streptosporangium*。从 *Glycine max* 植物分离到 68 株链霉菌。从卫茅科、茄科等分离到 *Nocardiopsis*, *Actinomadura*, *Rhodococcus*, *Luteococcus* 及 *Microthartus* 等。

植物体内也广泛分布着内生细菌。Mundt 等分离过 19 个属植物的内生细菌, 结果从 8 个属、31 个种分离到细菌, 主要是 *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Arthrobacter* 及 *Cellulomonas* 等。从棉花, 番茄、甜菜, 瓜类, 马铃薯等农作物分离到 *Pseudomonas*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Herbaspedicae*, *Clavibacter*, *Aureobacterium*, *Hydrogenophaga*, *Flavimonas* 等 50 多个属的内生细菌。

* 通讯作者 Tel: 0871-5035263, Fax: 0871-5173878, E-mail: lihxu@ynu.edu.cn

收稿日期: 2005-10-08

2 内生菌资源的利用

弗兰克氏菌与许多非豆科植物共生结瘤, 固定空气中的氮素, 供植物利用。在干旱地区种植耐旱植物(如沙棘、冬瓜树等), 并人工接种弗兰克氏菌, 能提高植物的存活率, 增加植物生长速度。一些试验证明, 内生菌能促进宿主植物的生长, 增加生物量, 促进发芽, 增加分蘖, 提高植株存活率。内生菌能提高宿主植物的抗逆能力, 增加产量。马铃薯的内生菌能防治马铃薯茎基腐病。从玉米分离到的内生 *Enterobacter cloacae*, 与玉米种子拌种, 能有效防治玉米病害。

从内生菌开发生物活性物质是目前研究工作的主流。紫杉醇是临床上治疗肿瘤的良好药物。已经从 *Taxus brevifolia*, *T. allichiana*, *T. Taxifolia*, *T. Distichum*, *T. Mairei*, *Wolemia nobilis* 等植物分离到能产生紫杉醇的真菌。已经从植物内生菌分离到 Cryptocin, Cytonic acid A, Ambuic acid, Jesterone, Cryptocandin, Cuanacastepene A, Phomoxanthones A B, Subglutinin A 等一系列生物活性物质。李桂玲等^[4]从 *Taxus chinensis* var. *Mairei* 分离到 *Paecilomyces*, *Cephalosporium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Cladosporium* 等内生菌, 都具有抗肿瘤活性。从 *Pinus* 植物分离到的 *Hormonema dematioides*, 产生 Hormonemate, 能引起肿瘤细胞凋亡。从喜树、桃儿七等植物组织也分离到具有抗肿瘤活性的物质。Taechowisan 等^[2]从 12 个科宿主植物分离到的 307 株链霉菌, 其中 0.6% ~ 13.2% 的菌株具有抑制 *Colletotrichum musae*, *Fusarium oxysporum* 等真菌的活性。从 *Ascochyta salicorniae*, *Muscador vitigenus*, *Phomopsis*, *Geotrichum* 等内生菌分离到具有杀虫活性的化合物。

3 值得研究的问题

弗兰克氏菌与宿主植物共生, 固定大气中的氮气, 成为植物可利用的氮源。对人类来说, 这是最清洁、最经济的氮肥, 在植树造林、生态改良上有着非常重要的应用前景。自从 1978 年第一次获得弗兰克氏菌的纯培养以来, 许多国家开展了弗兰克氏菌的研究工作。但是, 迄今为止, 弗兰克氏菌作为一类林业菌肥, 仍然没有大面积推广应用。其重要原因之一是弗兰克氏菌在人工培养条件下生长缓慢, 很容易被杂菌污染。因此, 研究弗兰克氏菌的生理, 研制快速生长、生产工艺简便的菌剂, 是解决应用问题的关键。

紫杉醇作为肿瘤治疗的优良药物已被世人接受。传统靠砍伐红豆杉树木生产紫杉醇已决不可能; 而人工种植红豆杉生产紫杉醇, 也遇到成本、生产周期等一系列难题。所以目前市场上紫杉醇奇缺, 奇贵。1993 年, Strobel 从短叶紫杉分离到能产生紫杉醇的内生菌, 为微生物生产紫杉醇带来了一线曙光, 并掀起了从内生菌寻找药物先导化合物的热潮。尽管花费了大量的人力和物力, 试图提高菌株产紫杉醇的能力, 十多年过去了, 这个菌株的生产能力仍然很低, 成本降不下来, 达不到投产水平。这就提出了一个问题: 为什么内生菌脱离宿主以后, 在人工条件下生长很慢, 合成紫杉醇化合物的能力很低? 显然, 内生菌在宿主体内的生长、合成紫杉醇的能力是在植物和宿主共生“兼容”的范围内, 是有利于植物和内生菌的生长发育的前提下、长期共同进化形成的互动机制。在人工条件下, 这种机制被改变了。为了真正使内生菌产生的生物活性物质变成药物, 有必要将共生体作为一个动态过程, 对菌与植物的互动作用, 内生菌的生理特性, 生长调节机制, 合成人紫杉醇的调节因素等进行系统研究。

部分微生物全基因组测序的完成, 促使人们利用基因工程技术, 将合成紫杉醇的基因簇转移到其他宿主微生物, 实现工业化生产成为可能。由于至今仍然没有达到生产水平, 这就不但需要研究紫杉醇合成基因的结构、功能及调节机制, 还要研基因的表达式。

内生菌的发掘的确扩大了微生物资源的范围, 但内生菌的研究和开发利用增加了一层难度, 主要是分离纯培养困难, 容易被植物表面的微生物污染, 需要排除外源微生物污染。因此设计能有效分离内生菌的分离程序仍然是值得研究的课题。

参考文献

- [1] Strobel G, Stierle A, Stierle D. *Mycotoxins*, 1993, **40**: 71 ~ 81.
- [2] Taechowisan T, Peberdy J F, Lumyyong S. *World J Microbiol Biotech*, 2003, **19**: 381 ~ 385.
- [3] Coombs J T, Franco C M M. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 5603 ~ 5608.
- [4] 李桂玲, 王建锋, 黄耀坚, 等. *菌物系统*, 2001, **20** (3): 387 ~ 391.