

叶面微环境和微生物群落*

施 雯 张汉波**

(云南大学生命科学学院生物学系 昆明 650091)

摘要 叶面独特的生物学特征引起了越来越多研究者的关注。对植物叶面微环境和叶面微生物的研究动态进行了综述,重点介绍了叶面环境的特点、叶面微生物群落的特征、叶面微生物的入侵方式和定居位置。最后对叶面微环境的研究和应用前景进行了展望。

关键词 叶面,叶面微生物,定居

中图分类号:X172 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2007)04-0761-04

Characteristics of Phyllosphere and Epiphytes*

SHI Wen ZHANG Han-Bo**

(Department of Biology, School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091)

Abstract Phyllosphere and epiphytes have attracted significant interest of more and more researchers by their unique biological characteristics. Progress of research on phyllosphere and epiphytes was summarized in this paper, and the special emphasis was put on the characteristic of phyllosphere, microbial communities, invasion and the location of bacteria on leaf surfaces. Some ideas for further studies on phyllosphere microbes were also proposed.

Key words Phyllosphere, Epiphytes, Location

植物的叶面作为一个独立的微环境域,通常被细菌、酵母菌、真菌等微生物栖息。人们把微生物群落附着的叶面微环境域称为“叶际(phyllosphere)”,而生存在其上并可以定居和增殖的微生物群体为“叶面微生物(epiphytes)”^[1,2]。

叶面作为微生物的栖息地,它所提供的面积是非常巨大的。在陆地生态系统中,由叶面所构成的可供微生物生存的总面积可达 $6.4 \times 10^8 \text{ km}^2$ ^[3]。这样巨大的一个面积,可以预期在其上生存定居的微生物数量也非常惊人。有人估计地球上叶面微生物的总数可以达到 10^{23} 个细胞^[3]。因此,叶面微生物也是一个相当巨大的生物群体。

然而与定植在植物的花、芽和根际的微生物群落相比,目前对叶面微生物群落还知之甚少。由于叶面微生物的类群和定居模式对其宿主植物的生长、代谢、抗病害等生物活动有很大影响,本文重点阐述了叶面微环境的特点、叶面微生物的群落结构

和着生位置。

1 叶际微环境

叶面苛刻的理化条件对于微生物来说是一个极其恶劣的生存环境。由于叶面伸展在空气中,阳光特别是紫外线强度、空气中的污染物质、温度、风速以及降雨量等都会影响到叶面微环境的理化条件,从而影响到叶面微生物的生长。然而,叶际微环境的湿度、地势特征和营养状态对微生物群落的影响具有更显著的作用。

1.1 湿度

叶表最外面通常有一层由蜡质形成的疏水表层,造成叶面极度干燥。因此,叶面对多数微生物,特别是真菌的生长繁殖是非常不利的,因为大多数真菌孢子的萌发要求高湿度。同时,这一蜡质层的存在也限制了叶内营养通过被动扩散达到叶表面^[4,6,7],降低了微生物的营养来源。此外,叶片被

* 国家自然科学基金基金资助(No. 30560033)。

** 通讯作者 Tel: 0871-5034282, E-mail: zhbb@ynu.edu.cn

收稿日期: 2006-08-22, 修回日期: 2006-10-08

一层非常薄的表皮层所包裹,从气孔中蒸发出来的水汽会给叶面上的微生物造成较大反渗透压,更增加了叶面微生物的生存压力。

1.2 叶面地势

叶面小范围内的凹凸不平是导致微生物种群结构的重要因素之一。叶子表皮细胞所产生的向外膨胀与向内塌陷决定了凹陷部分的地势形态,继

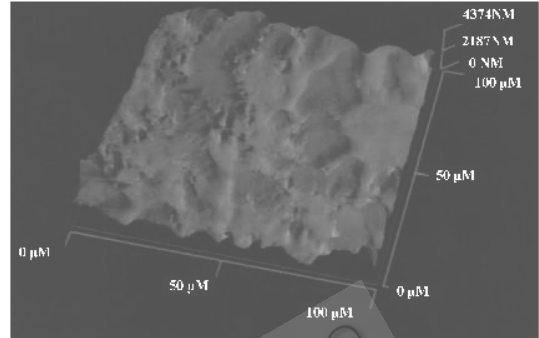
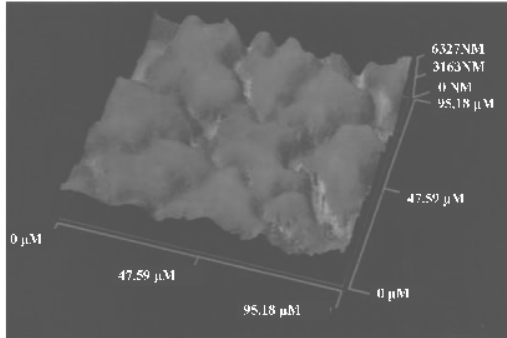


图1 *Vaccinium macrocarpon* 嫩叶片与老叶片在电子显微镜下的叶面地形图照片^[4]

1.3 营养条件

叶面上可利用的碳源种类也影响到附生微生物的种类^[8,9]。通过对叶面的清洗而获得的营养物质非常少^[10],因此叶面的营养物质种类和含量是很有限的,仅限于从叶片内部渗透到叶表面的一些单糖物质,如葡萄糖、果糖、蔗糖等^[10,11]。此外,叶面上的营养分布有很大的空间异质性,从而导致叶面微生物群落分布在空间上是异质的。

2 叶面微生物类群的组成特点

尽管叶面环境及其恶劣,但在叶面定植的生物类群也丰富多样,包括有细菌、丝状真菌、酵母、藻类以及少量的线虫和原动物类群。但由于叶面环境特殊的理化条件,这些类群同其它环境有一定差异。

好氧细菌是叶面上最多的微生物类群,如假单胞菌属(*Pseudomonas*)和伊文氏杆菌属(*Erwinia*)是常见种类。此外,常见的类群有芽孢杆菌属(*Bacillus*),短杆菌属(*Curtobacterium*),节杆菌属(*Arthrobacter*),黄单胞菌属(*Xanthomonas*),红球菌属(*Rhodococcus*),黄杆菌属(*Flavobacteria*),微球菌属(*Micrococcus*),红螺菌属(*Rhodospirillum*)等^[12]。除了叶面是一个有氧环境外,另一个主要原因是目前的工作局限于对可培养好氧细菌和植物病原微生物的研究。因为阳光的辐射影响了叶面生态环境^[13],在根际环境中极少被分离到的着色细菌在叶际环境中

而影响到滞留其中的水滴的形状与扩散^[4],最终导致叶面微生物群落组成不同^[5]。由于嫩叶片的表皮细胞向外膨胀非常规律(图1左),而老叶片的表皮细胞缺乏这种规律性(图1右)。所以嫩叶表面比老叶要更为平滑^[4],从而影响到二者的微生物群落差异。

却以优势种群存在^[14,15]。反之,在根际环境中常见的菌种如根瘤菌属(*Rhizobium*)和固氮螺旋菌属(*Azospirillum*)在植物叶面却无法生存。

阔叶植物如黄瓜和豆类叶片上分离到的细菌种类远多于兰科等狭叶植物叶片^[16,17]。在一年中不同时间叶面细菌的多样性也不相同。每年最热和最干燥的几个月是叶面微生物多样性最低的时节,而随着天气的变凉和雨季的到来,细菌多样性值也逐渐达到最高。此外,在新生叶片上的细菌多样性指数要大于老叶片,这可能与上述提到的新、老叶片微地形差异有关^[15]。

尽管目前也观察到了链格孢属(*Alternaria*),曲霉属(*Aspergillus*),尾孢属(*Cercospora*),头孢属(*Cephalosporium*),枝孢属(*Cladosporium*),镰孢属(*Fusarium*),长蠕孢属(*Helminthosporium*),大茎点霉属(*Macrophoma*),青霉属(*Penicillium*),拟盘多毛孢属(*Pestalotiopsis*),叶点霉属(*Phyllosticta*)等丝状真菌存在^[12],但一般的观点认为,丝状真菌只是叶面环境中暂时的定居者,它们通常只是以孢子的形式存在一段时间,相反酵母菌却能大量增殖^[18]。

近年来,通过直接从植物叶表提取微生物总DNA进行rRNA基因扩增的方法,发现叶面微生物的种类要比用传统培养方法得出的结果复杂,且许多类群尚未被描述^[14,19]。

3 叶面微生物对叶面的入侵和定居模式

叶面微生物入侵方式多种多样,但因它们在生存和繁殖方面有相似的要求,所以定居叶面的过程也有许多共同之处,大体上可以归纳为以下几个步骤(图 2)。

第 1 步、微生物通过空气、水、载体等途径到达叶面,以单个细胞或小细胞群的形式随机分布在叶

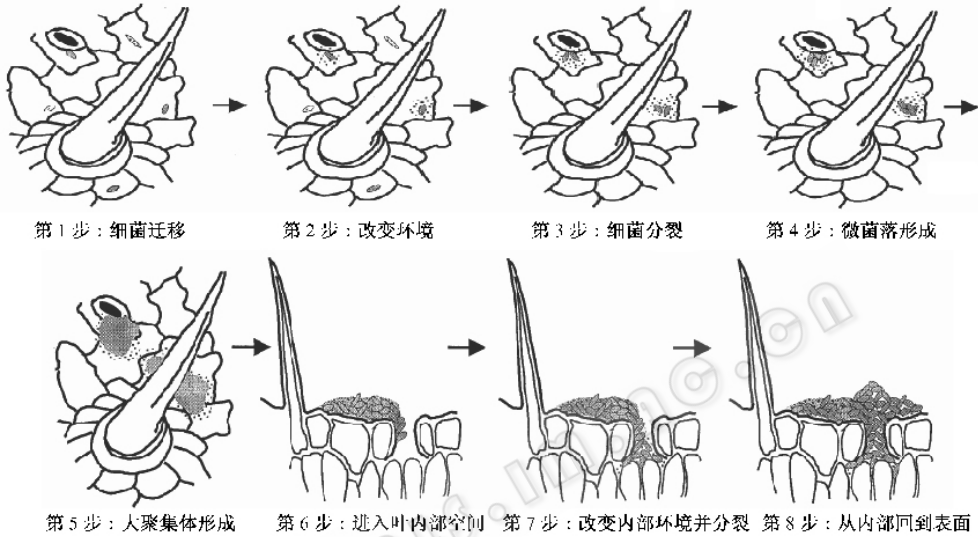


图 2 微生物在叶面定居的模式

第 4 步、细胞增殖形成微菌落(microcolony)。微克隆有可能是同源的(由单细胞增殖形成),也可能是异源的(由多个物种的细胞增殖形成);

第 5 步、微菌落进一步发展成较大的、对生存更有利的菌体聚集体(aggregate)。同微菌落一样,它也可能由同种或多种细菌组成。

Morris 等^[20]在研究多种植物叶面后发现,多数微生物是通过聚集成一个紧密群体的方式附着在叶表面的,在它们的周围很少有其它定居者。从这些细菌聚集体的特征来看,这个结构非常有利于微生物相互之间的沟通以及和宿主植物的互动。微生物聚集成为集合体的过程可能是微生物在叶面成功定居的关键步骤(图 3)。

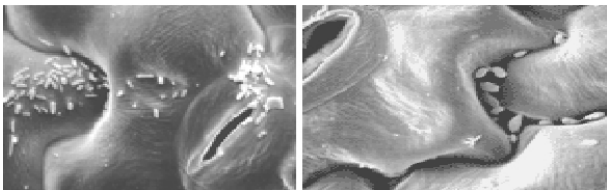


图 3 电镜下的黄豆叶面微生物群落^[23]

表面;

第 2 步、一些类群经气孔或排水器等开口进入叶片内部,另一些可改变叶面环境以利于自己定居在叶表面;

第 3 步、可以改变叶面环境的微生物大量增殖,继而进一步向有利于自身生长的方向改变叶面环境,那些不能改变环境的种群只有很小的生存机会。

一些病原微生物可通过气孔或机械损伤伤口等进入叶片内部,继而在叶片细胞间大量增殖,并改变其内部环境。这些病原菌还可借助水分溢出、或通过叶面的物理损伤等途径从叶片内部又迁移到叶表面(图 2,第 6、7、8 步)。

利用叶面印记(leaf imprint)方法观察到叶面微生物并不是均匀分布在叶表面,而是在某些特殊位置定居^[21-22]。扫描电镜(SEM)照片显示微生物常定居在植物毛状体基部^[23]、气孔附近^[23-24-25]、表皮细胞交接处^[26-27]、特别是叶脉的凹槽中^[21-23]。叶表皮低凹处^[23]、排水器附近^[28]和植物的特殊结构如夹竹桃的气孔里、橄榄叶的果胶质纤毛上也是常见的定居位置^[29]。此外,叶片的远轴面比近轴面的微生物多,原因是远轴叶面上的毛状体或气孔密度更大^[21-29-31]。

4 结语

植物叶际是一个以叶面为载体,植物叶面——微生物相互作用的微生态系统。在此微环境内,叶

面微生物的活动是影响植物生长,保持微生态平衡的关键因素。特别是在经济作物如烟草、茶叶中,它们还对作物的生长产生极其重要的影响。叶面的诸多特征使其成为一个研究微生物生态的绝好环境。比如,叶面干净而独立,我们可以应用现代显微技术直接观察到叶面微生物的形态,生命活动甚至是基因表达。也还可以通过改变叶面的环境条件来检验生存其上的叶面微生物的各种生命活动。其它很多重要的方向,如微生物入侵、生态模式、独立生物地理学(island biogeography)也可以容易地在叶面微生物系统中进行研究。

因此,叶面微生物学为我们展示了相当广阔的微生物生态学视野,也为植物保护提供了更多新颖而有效的办法。虽然这方面的研究已引起了国外众多学者的重视,并已成为多学科研究的重点,但国内的工作还主要集中在对少数几种经济作物和植物病原微生物的研究上。因此,要全面认识和深入了解叶面环境的微域性、动态性和复杂性的特点,就必须加强各相关学科之间的交流与协作,进行技术创新并发展新的研究方法与技术,把对叶面环境和叶面微生物的研究开拓到更广阔的领域。

参考文献

- [1] Lindow S E , Brandl M T. Appl Environ Microbiol ,2003 ,**23** :1875 ~ 1883.
- [2] Beattie G A , Lindow S E , phytopathology ,1999 **89** 353 ~ 359.
- [3] Morris C E , Kinkel L L. In Lindow S E , Hecht-Poinar E I , Elliott V (ed.) , phyllosphere microbiology . APS Press , St Paul , Minn. 2002. pp.365-375.
- [4] Mechaber W L , Marshall D B , Mechaber R A , et al . Natl Acad Sci , USA 1996 **93** :4600 ~ 4603.
- [5] Southwood T R E. Ecol ,1977 **46** 337 ~ 365.
- [6] Knoll D , Schreiber L. New Phytol ,1998 **140** 271 ~ 282.
- [7] Knoll D , Schreiber L. Microbial Ecol 2000 **40** 33 ~ 42.
- [8] Wilson M , Lindow S E. Appl Environ Microbiol ,1994 **60** :3128 ~ 3137.
- [9] Wilson M , Lindow S E. Appl Environ Microbiol ,1994 **60** :4468 ~ 4477.
- [10] Tukey H B. Annu Rev Plant Physiol ,1970 ,**21** 305 ~ 324.
- [11] Mercier J , Lindow S E. Appl Environ Microbiol 2000 **66** 369 ~ 374.
- [12] 高旭晖 ,高曙晖.中国茶叶加工 2000 (4) 34 ~ 37.
- [13] Jacobs J L , Sundin G W. Appl Environ Microbiol ,2001 **67** :5488 ~ 5496.
- [14] Stout J D. N Z J Agric Res ,1960 **3** 413 ~ 430.
- [15] Ercolani G L. Microbial Ecol ,1991 **21** 35 ~ 48.
- [16] Kinkel L L , Wilson M , Lindow S E. Microbial Ecol 2001 **39** :1 ~ 11.
- [17] O'Brien R D , Lindow S E. Phytopathology ,1989 **79** 619 ~ 627.
- [18] Andrews J H , Harris R F. Annu Rev Phytopathol 2002 **38** :145 ~ 180.
- [19] Yang C H , Crowley D E , Borneman J , et al . Proc Natl Acad Sci , USA. 2001 **98** :3889 ~ 3894.
- [20] Morris C E , Monier J M , Jacques M A. Appl Environ Microbiol ,1997 ,**63** :1570 ~ 1576.
- [21] Leben C. Phytopathology ,1998 **78** :179 ~ 185.
- [22] Leben C , Schroth M N , Hildebrand D C. Phytopathology ,1970 **60** :677 ~ 680.
- [23] Bashan Y , Diab S , Okon Y. Plant Soil ,1982 **68** :161 ~ 170.
- [24] Mansvelt E L , Hattingh M J. Can J Bot ,1987 **65** :2517 ~ 2522.
- [25] Timmer L W , Marois J J , Achor D. Phytopathology ,1987 **77** :1341 ~ 1345.
- [26] Leben C. Can J Microbiol ,1996 **15** 319 ~ 320.
- [27] Blakeman J P. Phytopathology ,1985 **23** 6 ~ 30.
- [28] Mew T W , Mew I C , Huang J S. Phytopathology ,1984 **74** :635 ~ 641.
- [29] Surico G. J Phytopathol ,1993 **138** 31 ~ 40.
- [30] Cafati C R , Saettler A W. Phytopathology ,1980 **70** :675 ~ 679.
- [31] Miles W G , Daines R H , Rue J W. Phytopathology ,1997 **67** :895 ~ 897.