

广义与狭义植物内生生物的定义及其研究进展

张晓婧 刘润进*

(青岛农业大学 菌根生物技术研究所 山东 青岛 266109)

摘要: 本文从比较植物内生生物的概念入手, 提出了广义与狭义两种植物内生生物的定义; 归纳了植物内生生物的物种多样性、分布、及其代谢特点; 分析了植物内生生物与寄主植物的关系; 探讨了部分植物内生生物潜在的价值和应用前景。

关键词: 内生细菌, 内生放线菌, 内生真菌, 多样性, 生理, 生态, 代谢

Broad and narrow definition of endophytes and related advances in the study

ZHANG Xiao-Jing LIU Run-Jin*

(Institute of Mycorrhizal Biotechnology, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China)

Abstract: In recent years, endophytes such as endophytic bacteria, endophytic actinomycetes and endophytic fungi have become the popular topics in biology. In this article we started with comparing different definitions of endophytes, proposed broad and narrow conceptions of the organisms, then summed up their species diversity, distribution and their physiological metabolism characters, analyzed the relationship between endophytes and host plants, and discussed endophyte potential values and its application prospects in order to provide ideas and bases for promoting endophyte study.

Keywords: Endophytic bacteria, Endophytic actinomycetes, Endophytic fungi, Biodiversity, Physiology, Ecology, Metabolism

De Bary (1866)将生活在植物组织内的微生物定义为 Endophytes, 用以区别那些生活在植物表面的表生生物(Epiphyte)。由于人们最初从植物体内分离的大多为真菌, 故以往将 Endophyte 翻译为“内生菌”或“内生真菌”^[1]。当前, 该术语已被广泛用于超出原字面意思和其潜在的寄主与其定殖者的范围, 这些生物可以是细菌^[2]、真菌^[3]、植

物^[4]、昆虫^[5]和藻类^[6]。从字面意义来看, Endophyte 的意思是“植物体内”(Endon, 希腊语, 等同于英文的 Within, 而 Phytion 则等同于 Plant)。因此, 本文采用“植物内生生物”这一术语来表达植物体内所有生物可能是比较符合实际情况和准确的。然而, “哪些生物”属于“植物内生生物”的范畴, 学术界一直存在争论^[1,7]。问题的焦点在于

基金项目: 山东省科技发展计划项目(No. 2012GNC11010); 青岛市科技计划基础研究项目(No. 12-1-4-5-(14)-jch); “泰山学者”建设工程专项经费

*通讯作者: Tel: 86-532-88030113; 信箱: liurj@qau.edu.cn

收稿日期: 2013-11-23; 接受日期: 2013-12-24; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-01-08

“植物病原物(Plant pathogens)”和“有益共生生物(如菌根真菌和共生固氮细菌等)”是否属于“植物内生生物”?依据 De Bary 的定义,植物病原物、菌根真菌和共生固氮菌也属于内生生物。而 Carroll (1986)^[8]则将植物病原物和菌根真菌等排除在外,认为只有那些生活在活的植物组织内并不改变或引起明显病害症状的生物,才属于内生生物的范畴。Petrini (1991)^[9]基本上接受 Carroll 的概念,但他将某一阶段营表面生的腐生菌、潜伏性病原物和菌根真菌也纳入内生生物的范畴。很多学者认为“内生生物”应该包括可以在植物组织内定殖但不会对植物造成明显伤害的生物、生活史中某些阶段进行表生生活的生物和对寄主暂时没有伤害的潜伏性病原物。目前普遍认为内生生物应具有如下特征:一是能在活体植物内定殖;二是不引起寄主植物组织结构发生明显变化;三是在正常情况下,一般不引起寄主植物出现病害症状。

基于以上状况,为了探讨问题方便、有利于学术研究,笔者认为不妨将“植物内生生物”这一概念区分成“广义”和“狭义”两个定义,即广义的植物内生生物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各种组织和器官内部的对植物有益、有害或无影响(或称为“中性”)的任何生物,包括细菌、放线菌、真菌、藻类、植物和昆虫等;而狭义的植物内生生物则仅指定殖于植物组织或细胞内大多不形成固定(或特殊)结构、不影响或部分(轻微)影响植物生理代谢的生物,这些生物不包括已经定性的并形成固定(或特殊)结构的互惠共生生物(如菌根真菌、互惠共生放线菌、互惠共生细菌等)和有害的生物(如病原真菌、病原放线菌、病原细菌、病毒、病原线虫和害虫等)(图 1)。本文仅讨论狭义的植物内生生物的物种多样性、分布特征、生理代谢、效应与机制等方面的内容。

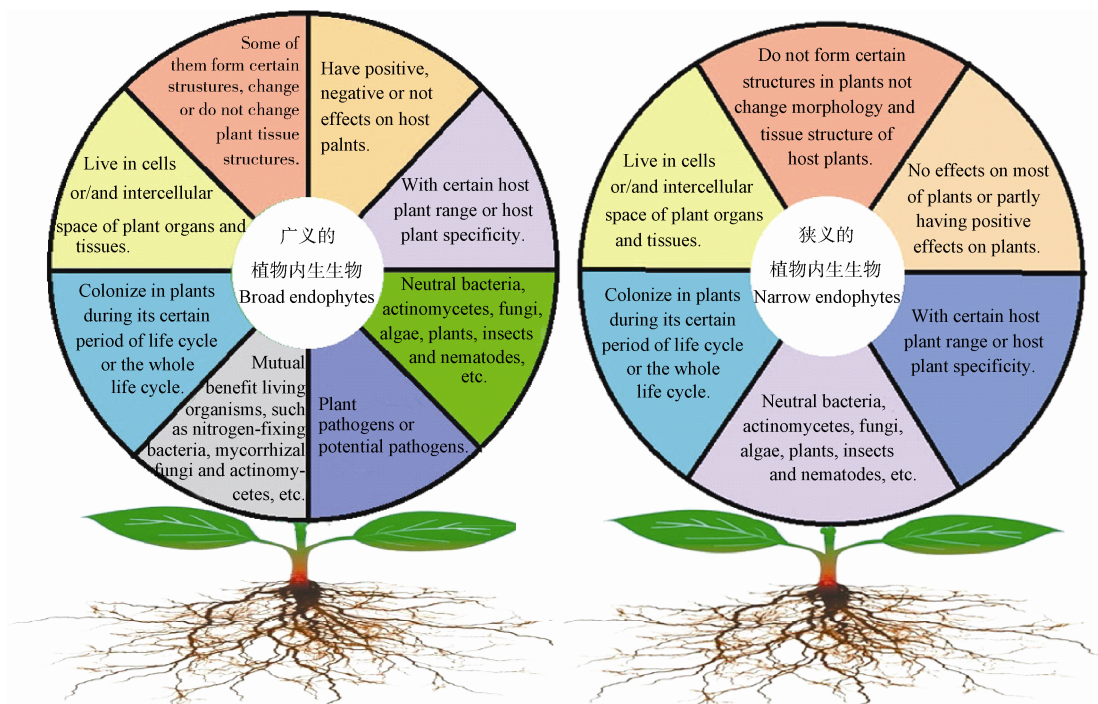


图 1 广义与狭义植物内生生物定义示意图

Figure 1 Schematic diagram of broad and narrow definition of endophytes

1 植物内生生物的多样性与分布特征

1.1 植物内生细菌(Endophytic bacteria, EB)种类与分布

1876年, Pasteur 从无菌葡萄果汁中分离到细菌引起了人们对内生细菌的关注。1926年, Perotti 和他的助手在许多健康植物根组织内发现了细菌, 这一发现影响和改变了植物体内无细菌的概念, 但直至 20 世纪 30 年代关于植物体内是否存在内生细菌一直处于争论阶段。随后, Henning 和 Villforth (1940) 从 25 种健康植物根、茎、叶中分离到细菌, Macus (1942) 和 Sanford (1948) 的试验结果进一步证明了植物体内存在细菌的事实, 而 Tervet 和 Hollls (1948) 做了非常漂亮的工作, 不仅从马铃薯、胡萝卜、萝卜和甘薯等根茎内分离获得了细菌, 首次用热处理和纯培养的方法证明植物内的细菌是一个混杂的细菌群落, 而且还鉴定了两个细菌种群。截止 20 世纪 60 年代已从 30 多种健康植物体内分离到多种细菌, 植物体内分布细菌的事实得以确定, 该期可谓是明确植物体内存在细菌的定论期。此后, 人们研究 EB 的热情逐步高涨。我国于 20 世纪 70 年代开始研究 EB。中国农业大学陈延熙教授带领的课题组及其国内其他单位相继在棉花、水稻、番茄、辣椒、花生、小麦、烟草、马铃薯、黄瓜、哈密瓜、马尾松等不同种类的植物中分离得到多种 EB^[10-14]。可以说自 20 世纪 80 年代后 EB 研究进入了活跃期。1992 年 Kloepper 和 Beauchamp 首次提出了 Endophytic bacteria 的概念^[15]。1997 年 Hallmann 等又对 EB 的概念进行了补充, 认为 EB 可定殖于健康植物组织, 而不导致明显的病害症状^[16]。

EB 具有丰富的物种多样性。自 20 世纪中叶起, 已从香蕉(*Musa paradisiaca*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)、辣椒(*Capsicum frutescens*)、玉米(*Zea mays*)、水稻(*Oryza sativa*)、甘蔗(*Saccharum sinensis*)、葡萄(*Vitis* spp.)、橡树(*Quercus palustris*)、桉树(*Eucalyptus* spp.) 和杨树(*Populus euphratica*) 等多种植物分离到 80 属 120 余种 EB^[10-21], 主要有芽

孢杆菌属(*Bacillus*)、黄单孢菌属(*Xanthomonas*)、假单孢菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)、产碱菌属(*Alcaligenes*)及短小杆菌属(*Curtobacterium*)等。其中, 以芽孢杆菌属分布最广^[22-23]。而且, 多个属如假单孢菌属、芽孢杆菌属、黄单孢菌属、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、棒杆菌属(*Corynebacterium*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、气杆菌属(*Aerobacter*)、微球菌属(*Micrococcus*)和土壤杆菌属等多种 EB 可从同一种植物如马铃薯上分离到^[13,24]。Germaine 等^[18]用绿色荧光蛋白基因(GFP)标记从杨树木质部汁液中分离到 3 株 EB, 经标记的菌株能有效定殖于根围区, 并重新进入根内木质部, 继而在植物营养或繁殖器官中进一步扩散, 最终定殖于适合其生存的特定组织, 如根毛、叶片细胞间隙、细胞质等。

EB 大多来源于根围土壤, 从植物根部进入其他内部组织, 其多样性一定程度上取决于根围细菌的多样性^[15,24]。也可以从叶片气孔、水孔以及茎上的皮孔等自然孔口进入。例如甘蔗叶片上接种固氮葡萄糖酸醋杆菌(*Gluconacetobacter diazotrophicus*)能定殖到叶木质部导管^[25]; 还可能从植物繁殖器官进入内部组织, 如从葡萄枝蔓、花、果实和种子内分离到许多假单孢菌属、芽孢杆菌属和其他属的 EB^[17]。

EB 种群密度与植物种类、基因型、组织、生长发育阶段和环境条件有关^[12-13,26-29]。生长迅速的植物组织中 EB 数量较多、根系与种子内的 EB 数量较多、而茎和叶内的相对较少^[30]。但有时从叶内分离的数量会比根部多。EB 进入植物后, 多数定殖于薄壁组织的细胞间隙; 有些定殖于维管束内; 有些可穿过细胞壁进入细胞内; 有些则定殖于细胞质^[18]。关于 EB 是如何与植物进行信号识别的? 其进入植物体内扩散与定殖的机制是什么? 影响其定殖的因子有哪些? 以及其定殖过程与定殖后对植物生理生化代谢的影响等均是值得研究的问题。

1.2 植物内生放线菌的种类与分布

从藻类、针叶树、灌木和草本等数百种植物体内发现有放线菌定殖,尤其是红树林、热带多年生树木、小麦、水稻等禾谷类作物及一些药用植物等。Coombs 等^[31]从小麦根系分离到 58 株放线菌; Pullen 等^[32]从巴西和南非野生的 3 种卫矛科树木中分离到西康链霉菌(*Streptomyces setonii*)和桑氏链霉菌(*Streptomyces sampsonii*)。从叶蕨类植物分离到一株新的内生链霉菌菌株 NRRL-30566^[33],从蛇藤分离到菌株 NRRL-30562^[34]。Taechowisan 等^[35]从 2 科 31 种植物叶内分离到 97 株放线菌,分离频度为 71%;从茎分离到 21 株,分离频度为 30%;从根分离到 212 株,分离频度为 80%。我国浙江省农业科学院于 2003-2005 年间从雷公藤(*Tripterygium wilfordii*)不同组织中分离到内生真菌、细菌和放线菌共 614 株,其中从根内分离到的菌株占总菌株数的 50%,茎中占 44%,叶中占 6%^[36]。这些放线菌多为链霉菌属(*Streptomyces*),其中以灰褐链霉菌(*S. griseofuscus*)定殖率最高,为水稻中的优势放线菌类群。从云南 230 多种植物分离的 320 株放线菌中 90%以上是链霉菌属。此外还有少数稀有放线菌属如诺卡氏菌属(*Nocardia*)、小单孢菌属(*Micromonospora*)、链孢囊菌属(*Streptosporangium*)和拟无枝酸菌(*Amycolatopsis*)^[37]。这些内生放线菌多数种广泛分布于除南极洲以外的各大洲,且主要分布于温带地区。显然,植物物种多样性很大程度上决定了内生放线菌的物种多样性。植物叶鞘和种子中放线菌的菌丝数量最多,叶片和根内较少^[38],而很多内生放线菌是从根系和叶片中分离的,说明植物内生生物的共生关系是有序且有选择性的。土壤中大量放线菌是如何从土壤进入植物体内定殖的?其通过与植物既竞争又合作共生的作用机制是什么?均值得深入研究。

1.3 植物内生真菌(Endophytic fungi, EF)种类与分布

1898 年 Vogel 从黑麦草(*Lolium temulentum*)

种子糊粉层与种皮间观察到真菌菌丝层。同年,Guérin 认为种子内的菌丝层不是侵害的,而是共生的^[39]。由此,逐渐拉开了研究 EF 的序幕。20 世纪 70 年代中期已认识到牛和其他家畜遭受羊茅草毒害的问题,家畜食草后表现出的中毒症状与麦角中毒很相似。最初研究者忽视了 Neill (1940, 1941)关于高羊茅和多年生黑麦草 EF 的早期工作^[39]。Bacon 等(1977)^[40]重新发现了高羊茅的 EF (*Neotyphodium coenophialum*),并且该真菌能产生麦角生物碱。这引起了各界的高度重视和广泛的兴趣。随后大多数研究工作集中在温带地区^[41]和亚热带地区^[42]具有重要经济价值的植物,并逐渐扩展至热带地区植物^[43]、苔藓、蕨类和地衣等^[44]。而 Stierle 等^[45]1993 年从短叶红豆杉的韧皮部分离到一株产紫杉醇的 EF——这一具有轰动世界的研究成果,大大推动了 EF 研究工作。中国科学院微生物研究所郭良栋研究员(2001)对此前世界范围内的 EF 研究状况和进展进行了总结^[1]。

植物组织中蕴藏着丰富的 EF 资源,广泛分布于根、茎、叶、花、果实等部位^[46-47]。Fisher 等^[48]从 *Eucalyptus nitens* 上分离到 60 多种 EF, Hyde 等^[49]从澳大利亚热带地区每种棕榈树内分离到约 100 种。我国学者在 EF 物种多样性、生态分布与功能以及活性物质筛选等方面取得了重要进展^[50-60]。Wei 等^[61]从浙江、广西、云南等地的罗汉松科、山茶科和红豆杉科常见植物中分离到 24 种拟盘多毛孢属(*Pestalotiopsis*)真菌,其中包括新种 3 个、新纪录种 1 个。Liu 等^[62]从广东、广西和海南的红树林植株体内分离到 40 种拟盘多毛孢属真菌,以及从海南岛的罗汉松科、棕榈科和山榄科等植物中鉴定出 32 种拟盘多毛孢属 EF。Guo 等^[43,63]建立了不产孢内生真菌的分子鉴定和从植物体内直接检测 EF 多样性的分子方法,将传统的分离培养方法与分子生物学技术结合是当前 EF 多样性研究的有效方法^[64]。EF 主要为子囊菌类及其无性型,包括核菌纲、盘菌纲和腔菌纲等。最典型

的一类 EF 是分类学上较为混杂的、被称为深色有隔内生真菌(Dark septate endophytes, DSE), 广泛分布于热带、亚热带、温带及寒带生境中 114 科 320 属近 600 种植物根系表皮、皮层等细胞内或细胞间隙^[65-66], 以深色有隔菌丝和微菌核形态定殖。DSE 无特定的寄主专一性, 以形态学描述的 DSE 约 13 属 30 种^[67]。

2 植物内生生物的生理代谢特点

2.1 植物内生真菌产生次生代谢物质

EF 虽然在植物体内的生物量不大, 但可通过产生代谢产物或存在本身借助信号传导对植物体施加影响。DSE 具有漆酶、脂肪酶、淀粉酶和多酚氧化酶活性。Upson 等^[68]发现 DSE 能在寄主植物的根围矿化多肽类物质和一些氨基酸, 从而使植物根围更好地利用它们作为氮源。史央等^[69]证实水稻 EF B3 能产生漆酶。EF 能自身合成或者促进植物合成生长素(IAA)、细胞分裂素(CTK)、赤霉素(GA)、乙烯和脱落酸(ABA)等来调节寄主生长代谢, 如内生镰刀菌通过抑制植物体内乙烯信号途径来提高植物生长活性; 或者是促进生成一些新化合物。如 EF *Neotyphodium uncinatum* 可促使生长在欧洲和地中海的黑麦草合成黑麦草碱^[38]。自马来群岛海生植物和海藻中分离到 64 株 EF 的提取物中, 77%的提取物能抑制癌细胞的生长, 72%对细菌有抗菌活性, 16%对真菌有抗菌活性^[70]。截至 2012 年, 已有 178 种海生 EF 代谢物, 包括 138 种新型化合物被发现, 其功能主要集中在细胞毒性、酶抑制剂、抗感染、清除自由基与污染等^[71]。

2.2 植物内生放线菌产生次生代谢物质

植物内生放线菌能产生抗生素、植物激素、水解酶、生物碱类等次生代谢产物, 如抗生素类物质包括 2,4-二乙酰基藤黄酚(2,4-DAPG)、吩嗪羧酸(PCA)、藤黄绿脓菌素(PLT)、硝吡咯菌素(PRN)、脓青素(PYO)和一类丁酰内酯(Butyrolactones)等^[72]。从蓬莱蕉(*Marmorata*)、印楝(*Azadirachta indica*)、杜鹃花(*Rhododendron simsii*)分离的内生放线菌具有良好的抗菌活性,

并产生了新的抗生素;从蛇藤(*Kennedia nigriscans*)分离的内生链霉菌菌株 NRRL30562 产生了 4 种新的广谱抗生素 Munumbicins A、B、C、D, 对耐药性细菌及疟原虫有抑制作用^[33,73-74]。Igarashi 等^[75]从蕨类植物(*Pteridium aquilinum*)分离的 *Streptomyces hygroscopicus* TP-A0451 发酵液中检测到 Pteridic acids A、B, 该化合物具有与植物激素相似的功能, 能够促进芸豆(*Phaseolus vulgaris*)胚轴形成。培养基中添加 L-色氨酸作为前体物质时植物内生链霉菌 *S. violaceus*, *S. scabies*, *S. griseus*, *S. exfoliatus*, *S. coelicolor*, *S. lividans* 等菌株能够合成 IAA。*Streptomyces* sp. MBR-52 能够在杜鹃花组培苗中定殖, 并能促进杜鹃花组培苗根的萌发和生长^[76]。该菌株在加快组培苗生长、减少其感染的机会等方面具有潜在应用价值。

此外, 植物内生放线菌还为人类提供了多种抗生素、以及具有抗癌和抗感染的化合物。从意大利的欧洲红豆杉(*Taxus baccata*)中分离到北里孢菌(*Kitasatospora* sp.)能够产生抗癌化合物紫杉醇^[77]。植物内生放线菌还产生多种酶以适应其生境。Stamford 等^[78]观察到豆薯(*Pachyrhizus erosus*)块茎中拟诺卡氏菌(*Nocardopsis* sp.)产生的 α 淀粉酶 70 °C 活性达到最大值; 玉米叶片内生链孢囊菌(*Streptosporangium* sp.)能够产生最适温度为 70 °C 的葡萄糖淀粉酶。水稻内生放线菌 52%的菌株具有纤维素酶活性, 35%的具有木聚糖酶活性, 61%的具有果胶酶活性^[79]。这些结果对于食品加工业和医药业都具有广阔的应用前景。

2.3 植物内生细菌产生次生代谢物质

EB 能在植物体内产生抗生素、超氧化物歧化酶、挥发性有机物等, 可抑制或者杀死病原物并通过与病原物营养竞争和生态排斥作用抑制病原物生长。EB 分泌的抗生素包括 2,4-DAPG、PCA、PRN 和丁酰内酯等。如荧光假单胞菌产生的吩嗪类物质对小麦全蚀病菌有较强的抑制作用; 枯草芽孢杆菌能产生具一定程度的抗菌活性的脂肽(Lipopeptide)类抗生素^[80-81]。EB *Bacillus*

megaterium BP 17 和 *Curtobacterium luteum* TC 10 能合成抗生素, 有效抑制病原放线菌 *Radopholus similis* 所引起的辣椒疫病^[82]。某些 EB 产生 IAA、CTK、乙烯和 GA 等或是分泌铁载体向植物提供可溶性铁, 从而促进植物生长代谢^[83-84]。从玫瑰体内分离的 38 种 EB 中的 6 种能产生 IAA 和铁载体、溶解过磷酸钙, 还具有产生纤维素酶、木聚糖酶、果胶酶、淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶和几丁质酶等水解酶的能力^[30]; 龙葵(*Solanum nigrum*) PEB 菌株 LRE07 能产 IAA、ACC (1-氨基环丙烷-1-羧酸)脱氨酶和铁载体, 且具有溶解磷酸盐矿物和潜在的促进植物生长的能力^[85]。锡兰肉桂 EB *Muscodor albus* 产生含醇类、酸类、酯类、酮类和油脂等挥发性有机物可以有效地抵抗植物和人类的致病菌^[86]。最近发现长春花(*Catharanthus roseus*)中的一株微球菌属 EB 不仅能够提高植物生物量、抗癌活性物质 Vindoline、Serpentine 和 Ajmalicine 的含量, 而且还能提高其抗癌活性^[87]。今后继续分离鉴定这些生物活性成分将在一定程度上缓解药用植物资源匮乏的现状。

3 植物内生生物与植物的关系

植物内生生物与植物长期共处中形成了一定的、复杂的、多样性的或特殊的关系: 互惠共生、无害或微害关系等, 而这些关系可随多种因素变化而转变。专一性的 EB 只存在于一种植物体内, 如重氮营养醋杆菌(*Acetobacter*)只存在于甘蔗中^[25], 而非专一性的如荧光假单胞可以存在于菜豆、小麦、番茄、柠檬、甜菜和玉米等体内, 均已经分离出来。兼性内生生物, 如假单胞菌属、肠杆菌属(*Enterobacter*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)、产碱菌属、志贺氏菌属(*Shigella*)、柠檬杆菌属(*Citrobacter*)以及革兰氏阳性一些属的细菌等^[22-23], 它们既可生活在植物组织内, 也常见于土壤。持久性的 EB 可永久存在于植物组织内, 也可只存在一定阶段, 如腐烂棒杆菌存在于甜菜的整个生活史中。非持久性的只存在于植物生活史中的部分生长期。大部分 EB 属于这一类型。专性内生生物只生活于

植物细胞内, 从根围无法分离到。如红苍白草螺菌只生活在高粱和甘蔗组织内。

一般来说以种子进行的垂直传播的内生生物容易与寄主形成互惠共生^[88], 以孢子或内生生物本身进行的水平传播而形成的关系则较为复杂, 主要取决于两者基因型及环境, 同时与内生生物的毒性和寄主的抵抗反应程度有密切关系^[89]。侵染初期当寄主受到环境胁迫而内生生物毒性加强时, 容易形成偏害关系; 环境比较适宜时, 两者通过基因交换或信息交流可以相互适应, 最后可发展成互惠共生关系。Redman 等^[90]发现通过改变野生菌株的基因, 可改变菌株对寄主的病原毒性, 进而改变与寄主的关系。根据对植物的作用将 EB 分为三种类型: (1) 中性 EB, 其存在与否对植物生长发育均无明显影响; (2) 有益 EB, 改善植物生长发育、能抵御病虫害和提高植物对不良环境的适应能力; (3) 有害 EB, 与有益 EB 的作用相反, 如一些具有致病性或潜在致病性的细菌。其中中性 EB 占绝大多数, 只有少量(约 5%-10%)为有益细菌, 约 10%-20%为有害细菌^[91]。

3.1 植物内生生物与植物相互促进的正效应

Rudrappa 等^[92]发现植物组织内充足的水分及特定分泌物的产生有利于微生物粘附在一起形成微生物在寄主内赖以生存的特殊结构——生物膜(Biofilm), 进而促进内生生物的生长。寄主若长时间处于各种逆境中也能大大提高生物膜中细菌的各种抗性及其生存能力。大部分内生生物通过产生抗生素、植物激素类物质、酶类、其它次生代谢物质等增加自身的竞争作用、诱导或增强寄主防御机制以改善植物抗旱性^[47]、耐热性^[47]、抗病性^[93]及对病原菌和害虫的拮抗作用等^[94]。非沿海地区生长的植物感染黄色镰刀菌(*Fusarium culmorum*)后则具有很强的耐盐性, 进而能在沿海地区存活; 感染炭疽菌属 EF *Colletorichum protuberata* 后的植物具有很强的耐热性; EF 增加植物生物氧化、减少水分消耗, 进而增强寄主抗旱能力^[47]; 通过增加寄主对矿物质、重金属以及

有机质的吸收来提高寄主对逆境的适应性^[95-96]。EB 定殖的生态位与植物病原菌相似,它们通过与病原菌竞争空间和养分增强寄主抵御病害的能力^[97]。荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)的水杨酸合成基因的产物可诱导烟草分泌一些信号分子来增强其对烟草坏死病毒的抗性。Pavlo 等^[98]用内生假单胞菌株(*Pseudomonas* sp. IMBG294)和甲基营养菌株(*Methylobacterium* sp. IMBG290)处理马铃薯块茎能诱导其产生抗病性,从而提高马铃薯抵抗由 *Pectobacterium atrosepticum* 引起的软腐病的能力。大叶桉根系 EB 能抑制青枯病致病菌^[99]。辣椒 EB TmL2-9 对辣椒幼苗早疫病的防效可达 84%,对番茄幼苗早疫病也有一定防效^[100];木霉菌属(*Trichoderma* sp.)的许多 EF 可分泌胞外酶来降解病原真菌的细胞壁或分泌激素类物质促进植物生长^[101],如感染 EF *Heteroconium chaetospora* 的白菜苗干重增加了 3 倍左右^[102]。感染 EF 薄荷(*Mentha spicata*)的根、茎、叶片和空气中的挥发物含量与无菌苗的均有显著差异,甚至前者有新的化合物存在^[103]。甜菜(*Beta vulgaris*)根内一株 EF 能显著增加甜菜鲜重、叶绿素和糖含量,有明显促生、增糖作用^[104]。

3.2 植物内生生物对植物产生负效应

内生生物对植物的毒性作用主要表现为在寄主内产生一些不利于寄主生长的次生代谢产物。Schardl 等^[39]发现一些 EF 对寄主具有一定的负作用,如抑制寄主的结籽。EF 与寄主体外共培养时,有利于 EF 生长,而植物则更容易坏死,EF 可能分泌了一些对植物生长有害的毒性物质。EF 还可通过产生很多胞外酶,对寄主产生毒性作用^[89]。虽然部分内生生物对寄主有毒性作用,但只有极少数内生生物能导致寄主出现病症,主要原因在于寄主具有多种防御机制,如改变组织结构的物理机制和诱导解毒酶类的生理生化机制等,对内生生物产生一定程度的抗性,只要双方的效应处于均衡状态,寄生就不会产生明显的病症。相反,如果这种均衡被打破,比如在衰老或受环境胁迫

时,寄主抗性反应减弱,则内生生物有可能使植物致病或抑制生长。贫瘠的土地上感染 *Festuca arizonica* 的植物明显比没有感染的植株生长慢,而养分丰富条件下的植株则不存在该现象^[105]。

4 植物内生生物的潜在价值与可能的应用前景

作为植物微生态系统中的组分,内生生物可能促进了植物对环境的适应性。EB 对植物有促生、防病等有益作用。从马铃薯茎组织中分离的 192 株 EB 中有 61 株对由密执安棒形杆菌环腐亚种(*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*)引起的马铃薯环腐病有防治效果^[106]。崔林等^[13]从马铃薯组织内分离到 55 株 EB 对上述环腐亚种也具有拮抗活性。用水稻苗期根内阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)发酵液浸种或喷雾可以明显提高水稻对白叶枯病的抗性^[11]。从番茄根内筛选到 239 株 EB,其中 18 株于室内与盆栽条件下对番茄青枯病菌(*Pseudomonas solanacearum*)具有一定拮抗作用,该菌在番茄根系具有较强的定殖能力^[12]。自棉花分离的 170 株 EB 中有 40 株对棉花立枯病有防治效果,25 株诱导黄瓜对炭疽病产生抗性^[107]。从橡树分离的 889 株 EB 中,有 183 株能拮抗柞枯萎病菌,室内用 *Pseudomonas denitrans* 预先接种,病害减轻率达 50%^[108]。从棉花分离到 294 株细菌,7%的菌株对棉花黄萎病菌(*Verticillium dahliae*)有较强的拮抗作用,其中菌株 73a 对温室盆栽棉花黄萎病的防效可达 67%,田间应用防效 51%以上。EB 能够防治豌豆枯萎病、马铃薯黄萎病和立枯病、大豆菌核病和橡树黑斑病^[109-111]。部分 EB 能够减轻根结线虫的为害,荧光假单胞菌 89B-61、泡囊假单胞菌 N884、粘质沙雷氏菌 90-43 和枯草芽孢杆菌等 EB 的代谢物能够持续地防治南方根结线虫^[112]。可见,EB 作为生防制剂对植物病害的防治具有潜在价值和广阔的应用前景^[113]。

植物内生生物产生多种抗生物质,对植物、动物和人的病原菌有抑制活性。如从杜鹃花中的

链霉菌产生抗真菌物质对甘蓝黑斑交链孢霉(*Alternaria circinans*)有抑制作用;从卫矛科植物分离的内生链霉菌产生的抗生素对多种耐药性细菌和分枝杆菌有抑制活性^[72]。澳大利亚弗林德斯大学 Franco 等^[114]领导的研究小组经过 5 年的研究,将内生放线菌用于防治大田小麦全蚀病,使小麦产量提高了 60%。离体条件下,内生放线菌也具有拮抗植物病原菌的能力。Shimizu 等^[115]利用从杜鹃花分离的内生链霉菌 R-5 回接杜鹃花组培苗,该菌株能在组培苗内定殖、生长,并增强其叶片抵抗病原菌(*Pestalotiopsis sydowiana*)入侵能力。山月桂(*Osmamthus fragrans*)的内生链霉菌 AOK-30 接种组培苗后,不仅增强了组培苗抵抗病原菌(*Pestalotiopsis sydowiana*)的能力,还提高了组培苗抗旱、抗渗透压的能力^[116]。因此,利用内生放线菌接种组培苗被认为是提高组培苗抗病性和抗旱性的新途径。

更有意义的是我国研究人员分离到具有杀虫活性的内生放线菌。如范永玲等^[117]从辣椒根系分离到放线菌 Li20,其发酵液对小菜蛾幼虫有较强的拒食作用,对朱砂叶螨有较强的触杀和产卵忌避作用;史赞等^[118]从番茄根茎接合部分离的放线菌 St24 发酵液对小菜蛾幼虫具有较强的拒食作用,选择性拒食率和非选择性拒食率分别为 100% 和 98%。从植物内生放线菌中分离具有杀虫活性的菌株及活性物质可能成为增加微生物源杀虫剂的新领域。

EF 可增强寄主对病虫害的抵抗力。带有 EF 的植物对害虫的拒食性和其他抗性缘于 EF 在寄主体内产生毒素,主要为生物碱类,如吲哚双萜生物碱、双吡咯烷类生物碱和麦角碱等。20 世纪 80 年代早期, Funk 等^[119]首次报道 EF 可控制害虫的危害,发现长圆形拟茎点霉(*Phomopsis oblonga*)可以保护榆属(*Ulmus*)树木免受美洲榆皮天牛(*Physocnemum brevilineum*)的危害,并因此降低天牛传播荷兰榆树病。从芦苇(*Festuca arundinacea*)和黑麦草中分离的枝顶孢属(*Acremonium*)真菌可

制蚜虫的危害。感染 EF 的作物对病原线虫和一些病原真菌具有一定抗性^[120]。枝顶孢属的枝顶孢(*Acremonium coenophilum*)对多种体外培养的病原真菌有抑制作用。Findlay 等^[121]从黑云杉(*Picea mariana*)中分离的 *Conopleae legantala* 发酵液中的两个新的苯并吡咯类活性成分对由丝核菌(*Rhizoctonia* spp.)和镰刀菌(*Fusarium* spp.)引起的病害有极高防效,应用于水稻可防治水稻立枯病、恶苗病、徒长病等病害。李桂玲等^[122]从三尖杉、南方红豆杉及香榧中分离出 172 株 EF,抗菌活性检测表明其中有 90 株 EF 对多种作物病原真菌,如红色面孢霉(*Neurospora* sp.)和镰刀菌等有抑制作用。此外,人们日益关注受污染环境的生物修复。DSE 具有较高的重金属耐受性,而且能够降低重金属对植物的毒害^[123],可考虑采用 DSE 与植物联合修复重金属污染土壤。

5 研究动向与展望

近年来,虽然植物内生生物的研究得到重视,并在其定殖机制、生物学特性、生态学和资源调查等方面开展了一系列研究工作,但仍有很多问题缺乏全面系统深入的研究,这是其一。其二,绝大多数植物的内生生物还没有被发现。迄今研究过的植物也不过数百种(许多研究对农作物中的 EB 了解较多,对于树木中的内生生物知之甚少,仅对被子和裸子植物中的部分无病状树木中的内生生物进行了研究,相对于 25 万种植物来讲是微不足道的,有关海洋植物 EF 的研究才刚刚起步^[124-125],还有大量的工作需要开展。第三,植物内生生物的生态学研究比较零散,今后有待开展系统性、定位性和多因子生态研究。如,已知生长在热带、亚热带的植物,其 EB 的种类与数量比生长在寒冷、干燥地区的要多^[17],酸雨较多地区植物叶中 EB 数量可能随之而发生变化^[18],对其生态与生理机制缺乏研究。第四,分离鉴定与检测植物内生生物的技术需要进一步完善与创新。例如 EB 分离与鉴定方法一般都依赖于传统的平板培养方法,而无法分离到不可培养的 EB,

因而不能准确判断 EB 的数量与种类。虽然以 16S rRNA 基因作为系统发育标记为基础,克服了传统培养法的缺陷,为检测 EB 种群多样性提供了更有效的手段。但实际研究与应用过程中,尚有很多技术问题有待解决。第五,植物内生生物次生代谢活性物质分离、鉴定与生理效应;植物内生生物对植物、土壤、污染环境的修复效应、以及植物内生生物的商品化和产业化等方面均需要开展大量工作。可以预见不久的将来,植物内生生物将为人类健康与文明、经济与生产、生态系统稳定与可持续发展发挥应有的作用。

参 考 文 献

- [1] 郭良栋. 内生真菌研究进展[J]. 菌物系统, 2001, 20(1): 148-152.
- [2] Kobayashi DY, Palumbo JD. Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture. In: Bacon CW, White JF, eds. Microbial endophytes[M]. Dekker, New York: CRC Press, 2000: 199-236.
- [3] Stone JK, Bacon CW, White JF. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon CW, White JF, eds. Microbial endophytes[M]. Dekker, New York: CRC Press, 2000: 3-30.
- [4] Marler M, Pedersen D, Mitchell OT, et al. A polymerase chain reaction method for detecting dwarf mistletoe infection in Douglas and western larch[J]. Canadian Journal of Forest Research, 1999, 29: 1317-1321.
- [5] Feller IC. Effects of nutrient enrichment on growth and herbivory of dwarf red mangrove[J]. Ecological Monographs, 1995, 65: 477-505.
- [6] Peters AF. Field and culture studies of *Streblonema-Macrocystis* new species Ectocarpales Phaeophyceae from Chile, a sexual endophyte of giant kelp[J]. Phycologia, 1991, 30: 365-377.
- [7] Schulz B, Boyle C. What are endophytes: introduction and definitions. Microbial Root Endophytes[J]. Soil Biology, 2006, 9: 1-13.
- [8] Carroll GC. The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. In: Fokkema N J, van den Heuvel J eds. Microbiology of the Phyllosphere Cambridge[M]. UK: Cambridge University Press, 1986: 205-222.
- [9] Petrini O. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews J, Hirano S, eds. Microbial Ecology of Leaves[M]. New York, Berlin, Heidelberg: Springer, 1991:179-197.
- [10] 鲁素芸, 陈延熙. 棉花维管束中主要微生物类群初步分析[J]. 北京农业大学学报, 1989, 15(3): 326-329.
- [11] 杨海莲, 孙晓璐, 宋未, 等. 水稻内生阴沟肠杆菌 MR12 的鉴定及其固氮和防病作用研究[J]. 植物病理学报, 2001, 31(1): 92-93.
- [12] 龙良鲲, 肖崇刚. 内生细菌 01-144 在番茄根茎内定殖的初步研究[J]. 微生物学通报, 2003, 30(5): 53-56.
- [13] 崔林, 孙振, 孙福在, 等. 马铃薯内生细菌的分离及环腐病拮抗菌的筛选鉴定[J]. 植物病理学报, 2003, 33(4): 353-358.
- [14] 候美玲. 玉米内生细菌的分离鉴定及抗真菌活性物质的研究[D]. 保定: 河北农业大学硕士学位论文, 2012.
- [15] Kloepper JW, Beauchamp CJ. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1992, 38(12): 1219-1232.
- [16] Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF, et al. Bacterial endophytes in agricultural crops[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1997, 43: 895-914.
- [17] Compant S, Mitter B, Colli JG, et al. Endophytes of grape-vine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization[J]. Microbial Ecology, 2011, 62(1): 188-197.
- [18] Germaine K, Keogh E, Garcia-Cabellos G, et al. Colonisation of poplar trees by PFG expressing bacterial endophytes[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 48(3): 109-118.
- [19] Ting SY, Meon S, Kadir J, et al. Endophytic microorganisms as potential growth promoters of banana[J]. BioControl, 2008, 53(3): 541-553.
- [20] Amaresan N, Jayakumar V, Kumar K, et al. Endophytic bacteria from tomato and chilli, their diversity and antagonistic potential against *Ralstonia solanacearum*[J]. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 2012, 45(3): 344-355.
- [21] Pedrinho EAN, Júnior RFG, Campanharo JC, et al. Identification and evaluation of bacteria isolated from roots of maize[J]. Bragantia, 2010, 69(4): 905-911.
- [22] Compant S, Duffy B, Nowak J, et al. Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 4951-4959.
- [23] Hardoim PR, Overbeek LS, Elsas JD. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth[J]. Trends in Microbiology, 2008, 16(10): 463-471.
- [24] Berg G, Krechel A, Ditz M, et al. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 51: 215-229.
- [25] James EK, Olivares FL, Oliveira ALM, et al. Further observations on the interaction between sugar cane and *Gluconacetobacter diazotrophicus* under laboratory and greenhouse conditions[J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(357): 747-760.
- [26] 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(1): 7-12.
- [27] 杨海莲, 孙晓璐, 宋未, 等. 水稻内生联合固氮细菌的

- 筛选、鉴定及其分布特性[J]. 植物学报, 1999, 41(9): 927-931.
- [28] 刘云霞, 张青文, 周明群. 水稻体内细菌的动态研究[J]. 应用生态学报, 1999, 10(6): 735-738.
- [29] 高增贵, 庄敬华, 陈捷, 等. 玉米根系内生细菌种群及动态分析[J]. 应用生态学报, 2004, 15(8): 1101-1107.
- [30] El-Deeb B, Bazaïd S, Gherbawy Y, et al. Characterization of endophytic bacteria associated with rose plant (*Rosa damascena* trigintipeta) during flowering stage and their plant growth promoting traits[J]. Journal of Plant Interactions, 2012, 7(3): 248-253.
- [31] Coombs JT, Franco CM, Loria RD. Complete sequencing and analysis of pEN2701, a novel 13-kb plasmid from an endophytic *Streptomyces* sp.[J]. Plasmid, 2003, 49: 86-92.
- [32] Pullen C, Schmitz P, Meurer K, et al. New and bioactive compounds from *Streptomyces* strains residing in the wood of Celastraceae[J]. Planta, 2002, 216(1): 162-167.
- [33] Castillo UF, Strobel GA, Ford EJ, et al. Munumbicins, wide spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL30562, endophytic on *Kennedia nigriscans*[J]. Microbiology, 2002, 148: 2675-2685.
- [34] Castillo UF, Strobel GA. Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* sp. NRRL30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 224: 183-190.
- [35] Taechowisan T, Peberdy JF, Lumyyong S. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2003, 19: 381-385.
- [36] 俞晓平, 陈列忠, 申屠旭萍. 植物内生菌及其代谢物在生物农药创制中的应用[J]. 浙江农业学报, 2006, 18(5): 289-293.
- [37] 姜怡, 杨颖, 陈华红, 等. 植物内生菌资源[J]. 微生物学通报, 2005, 32(6): 146-147.
- [38] Strobel G, Daisy B. Bio-prospecting for microbial endophytes and their natural products[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2003, 67(4): 491-502.
- [39] Schardl CL, Leuchtmann A, Spiering MJ. Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes[J]. Annual Review of Plant Biology, 2004, 55: 315-340.
- [40] Bacon CW, Porter JK, Robbins JD, et al. *Epichloe typhina* from toxic tall fescue grasses[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1977, 34(5): 576-581.
- [41] Petrini O. Taxonomy of endophytic fungi in aerial plant tissues. In: Fokkema NJ, van den Heuvel J, eds. Microbiology of the Phyllosphere Cambridge[M]. UK: Cambridge University Press, 1986: 205-222.
- [42] Latch GCM, Christensen MJ, Samuels GJ. Five endophytes of *Lolium* and *Festuca* in New Zealand[J]. Mycotaxon, 1984, 20: 535-550.
- [43] Guo LD, Hyde KD, Liew ECY. Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* (Palmae) using morphological and molecular techniques[J]. New Phytologist, 2000, 147: 617-630.
- [44] Li WC, Zhou J, Guo SY, et al. Endophytic fungi associated with lichens in Baihua Mountain of Beijing, China[J]. Fungal Diversity, 2007, 25: 95-106.
- [45] Stierle A, Strobel G, Stierle D, et al. Taxol and taxane production by *Toxomyces* and reanae an endophytic fungus of pacific yew[J]. Science, 1993, 260: 214-216.
- [46] Rodriguez RJ, Redman R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(5): 1109-1114.
- [47] Rodriguez RJ, White JF, Arnold AE, et al. Fungal endophytes: diversity and functional roles[J]. New Phytologist, 2009, 182: 314-330.
- [48] Fisher PJ, Petrini O, Sutton BC. A comparative study of fungal endophytes in leaves, xylem and bark of *Eucalyptus nitens* in Australia and England[J]. Sydowia, 1993, 45: 338-345.
- [49] Hyde KD, Frohlich J, Taylor J. Diversity of ascomycetes on palms in the tropics. In: Hyde KD, eds. Biodiversity of Tropical Microfungi[M]. Hong Kong: Hong Kong University Press, 1997: 141-156.
- [50] Zhang XX, Li CJ, Nan ZB, et al. Neotyphodium endophyte increases *Achnatherum inebrians* (drunken horse grass) resistance to herbivores and seed predators[J]. Weed Research, 2012, 52: 70-78.
- [51] Yuan ZL, Lin FC, Zhang CL, et al. A new species of Harpophora (Magnaporthaceae) recovered from healthy wild rice (*Oryza granulata*) roots, representing a novel member of a beneficial dark septate endophyte[J]. FEMS Microbiology Letters, 2010, 307: 94-101.
- [52] Chen J, Hu KX, Hou XQ, et al. Endophytic fungi assemblages from 10 *Dendrobium* medicinal plants (Orchidaceae)[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27: 1009-1016.
- [53] Tan XM, Chen XM, Wang CL, et al. Isolation and identification of endophytic fungi in roots of nine *Holcoglossum* plants (Orchidaceae) collected from Yunnan, Guangxi, and Hainan provinces of China[J]. Current Microbiology, 2012, 64: 140-147.
- [54] Xing XK, Chen J, Xu MJ, et al. Fungal endophytes associated with *Sonneratia* (Sonneratiaceae) mangrove plants on the south coast of China[J]. Forest Pathology, 2011, 41: 334-340.
- [55] Xing XK, Guo SX. Fungal endophyte communities in four Rhizophoraceae mangrove species on the south coast of China[J]. Ecological Research, 2011, 26: 403-409.
- [56] Xing XK, Guo SX, Fu JG. Biodiversity and distribution of endophytic fungi associated with *Panax quinquefolium* L. cultivated in a forest reserve[J]. Symbiosis, 2010, 51: 161-166.
- [57] Wu L, Han T, Li W, et al. Geographic and tissue influences on endophytic fungal communities of *Taxus chinensis* var. *mairei* in China[J]. Current Microbiology, 2013, 66(1): 40-48.
- [58] Wang LW, Xu BG, Wang JY, et al. Bioactive metabolites from *Phoma* species, an endophytic fungus from the Chinese medicinal plant *Arisaema erubescens*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 93(3): 1231-1239.
- [59] Sun X, Guo LD, Hyde KD. Community composition

- endophytic fungi *Acer truncalum* and their role in decomposition[J]. Fungal Diversity, 2011, 47: 85-95.
- [60] Sun X, Ding Q, Hyde KD, et al. Community structure and preference of endophytic fungi of three woody plants in a mixed forest[J]. Fungal Ecology, 2012, 5: 624-632.
- [61] Wei JG, Xu T, Liu AR, et al. Endophytic *Pestalotiopsis* species associated with plants of Podocarpaceae, Theaceae and Taxaceae in southern China[J]. Fungal Diversity, 2007, 24: 55-74.
- [62] Liu AR, Xu T, Guo LD. Molecular and morphological description of *Pestalotiopsis hainanensis* sp. Nov., a new endophyte from the tropical region of China[J]. Fungal Diversity, 2007, 24: 23-36.
- [63] Guo LD, Hyde KD, Liew ECY. Detection and identification of endophytic fungi within frond tissues of *Livistona chinensis* based on rDNA sequence[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 20: 1-13.
- [64] Sun X, Guo LD, Hyde KD. Community composition endophytic fungi *Acer truncalum* and their role in decomposition [J]. Fungal Diversity, 2011, 47: 85-95.
- [65] Jumpponen A, Trappe JM. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi[J]. New Phytologist, 1998, 140(2): 295-310.
- [66] Addy HD, Piercey MM, Currah RS. Microfungal endophytes in root[J]. Canadian Journal of Botany, 2005, 83: 1-13.
- [67] 张玉洁. 植物深色有隔内生真菌(DSE)的研究进展[J]. 文山学院学报, 2010, 23(1): 145-150.
- [68] Upson R, Read DJ, Newsham KK. Nitrogen form influences the response of *Deschampsia antarctica* to dark septate root endophytes[J]. Mycorrhiza, 2009, 20(1): 1-11.
- [69] 史央, 戴传超, 吴耀春, 等. 植物内生真菌强化还田秸秆降解的研究[J]. 环境科学学报, 2004, 24(1): 144-149.
- [70] Ariffin SA, Davis P, Ramasamy K. Cytotoxic and antimicrobial activities of Malaysian marine endophytic fungi[J]. Botanica Marina, 2011, 54(1): 95-100.
- [71] Debbab A, Aly AH, Proksch P. Endophytes and associated marine derived fungi-ecological and chemical perspectives[J]. Fungal Diversity, 2012, 57(1): 45-83.
- [72] 黄晓辉, 李珊谭, 周进, 等. 植物内生放线菌研究进展 [J]. 生物技术通报, 2008(1): 42-46.
- [73] Hasegawa S, Akane M, Shimizu M, et al. Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants[J]. Actinomycetologica, 2006, 20: 72-81.
- [74] Verma VC, Gond SK, Kumar A, et al. Endophytic actinomycetes from *Azadirachta indica* A. Juss: isolation, diversity, and antimicrobial activity[J]. Microbiology Ecology, 2009, 57: 749-756.
- [75] Igarashi Y, Iida T, Yoshida R, et al. Pteridic acids A and B, novel plant growth promoters with auxinlike activity from *Streptomyces hygroscopicus* TP-A0451[J]. Antibiotics, 2002, 55: 764-767.
- [76] Meguro AY, Ohmura S, Hasegawa M, et al. An endophytic actinomycete, *Streptomyces* sp. MBR-52, that accelerates emergence and elongation of plant adventitious roots[J]. Actinomycetologica, 2006, 20: 1-9.
- [77] Janso JE, Carter GT. Biosynthetic potential of phylogenetically unique endophytic Actinomycetes from tropical plants[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(13): 4377-4386.
- [78] Stamford TLM, Stamford NP, Coelho LCBB, et al. Production and characterization of a thermos table amylase from *Nocardia* sp. endophyte of yam bean[J]. Bioresource Technology, 2001, 76: 137-141.
- [79] 蔡爱群, 田新莉, 周世宁. 水稻内生放线菌降解酶活性的分析[J]. 韶关学院学报: 自然科学, 2007, 28(3): 107-109.
- [80] Mastretta C, Taghavi S, van der Lelie D, et al. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity[J]. Phytoremediation, 2009, 11: 251-267.
- [81] Cavalca L, Zanchi R, Corsini A, et al. Arsenic resistant bacteria associated with roots of the wild *Cirsium arvense* plant from an arsenic polluted soil, and screening of potential plant growth-promoting characteristics[J]. Systemic Applied Microbiology, 2010, 33: 154-164.
- [82] Aravind R, Eapen SJ, Kumar A, et al. Screening of endophytic bacteria and evaluation of selected isolates for suppression of burrowing nematode using three varieties of black pepper[J]. Crop Protection, 2010, 29: 318-324.
- [83] Hardoim PR, Elsas JD. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth[J]. Trends Microbiology, 2008, 16: 463-471.
- [84] Shi YW, Lou K, Li C. Promotion of plant growth by phytohormone-producing endophytic microbes of sugar beet[J]. Biology and Fertile Soils, 2009, 45: 645-653.
- [85] 万勇, 超积累. 植物龙葵内生菌强化镉植物修复的初步研究[J]. 湖南大学学报, 2009, 23(2): 44-49.
- [86] Strobel G. Muscodor species-endophytes with biological promise[J]. Phytochemistry Reviews, 2011, 10(2): 165-172.
- [87] Tiwari R, Awasthi A, Mall M, et al. Bacterial endophyte-mediated enhancement of in planta content of key terpenoid indole alkaloids and growth parameters of *Catharanthus roseus*[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 43: 306-310.
- [88] Selosse MA, Baudoin E, Vandenkoornhuyse P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants[J]. Comptes Rendus Biologies, 2004, 327: 639-648.
- [89] Barbara S, Christine B. The endophytic continuum[J]. Mycological Research, 2005, 109(6): 661-686.
- [90] Redman RS, Dunigan DD, Rodriguez RJ. Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader[J]. New Phytologist, 2001, 151: 705-716.
- [91] 何红, 邱思鑫, 胡方平, 等. 植物内生细菌生物学作用研究进展[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(3): 40-45.
- [92] Rudrappa T, Biedrzycki ML, Bais HP. Causes and consequences of plant-associated biofilms[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 64: 153-166.
- [93] Mandyam K, Jumpponen A. Seeking the elusive function

- of the root-colonising dark septate endophytic fungi[J]. *Studies in Mycology*, 2005, 53: 173-189.
- [94] 易婷, 缪煜轩, 冯永君. 内生菌与植物的相互作用: 促进生物薄膜的形成[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(11): 1774-1780.
- [95] Redman RS, Sheehan KB, Stout RG, et al. Therm tolerance generated by plant/fungal symbiosis[J]. *Science*, 2002, 298(5598): 1581.
- [96] Likarm AS. Dark septate endophytes and mycorrhizal fungi of trees affected by pollution[J]. *Forestry Sciences*, 2011, 80(3): 189-201.
- [97] Bacon CW, Yates IE, Hinton DM, et al. Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize[J]. *Environ Health Perspect*, 2001, 109: 325-332.
- [98] Pavlo A, Leonid O, Iryna Z, et al. Endophytic bacteria enhancing growth and disease resistance of potato (*Solanum tuberosum* L.)[J]. *Biological Control*, 2011, 56: 43-49.
- [99] 胡鸢雷, 慈忠玲. 桉树根部内生菌与青枯病相关关系研究[J]. *林业实用技术*, 2009(8): 42-43.
- [100] 张紫肖, 蒋继志, 吴素玉, 等. 几种内生菌促进辣椒幼苗生长及抗旱疫病的研究[J]. *安徽农学通报*, 2010, 16(23): 18-19.
- [101] Derama A, Languereau LF, Howsamc M, et al. Seasonal patterns of cadmium accumulation in *Arrhenatherum elatius*: influence of mycorrhizal and endophytic fungal colonization[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(3): 845-848.
- [102] Hashiba T, Narisawa K. The development and endophytic nature of the fungus *Heteroconium chaetospora*[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, 252: 191-196.
- [103] Mucciarelli, Camusso W, Maffel M, et al. Volatile Terpenoids of endophyte-free and Infected Peppermint (*Mentha piperita* L.): Chemical partitioning of a symbiosis[J]. *Microbial Ecology*, 2007, 54(4): 685-696.
- [104] 史应武, 姜恺, 李春. 内生真菌对甜菜主要农艺性状及氮糖代谢关键酶活性的影响[J]. *作物学报*, 2009, 35(5): 946-951.
- [105] Faeth SH, Helander ML, Saikkonen KT. Asexual neotyphodium endophytes in a native grass reduce competitive abilities[J]. *Ecology Letters*, 2004, 7: 304-313.
- [106] Van Buren AM, Andercic A. Biological control of the bacterial ring rot pathogen by endophytic bacteria isolated from potato[J]. *Phytopathology*, 1993, 83: 1406-1410.
- [107] Chen C, Banske M, Mussom G, et al. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria[J]. *Biological Control*, 1995, 5(1): 83-91.
- [108] Brooks DS, Gonzalez CF, Appel DN, et al. Evaluation of endophytic bacteria as potential biological control agents for oak wilt[J]. *Biological Control*, 1994, 4(4): 373-381.
- [109] 夏正俊, 顾本康, 吴蔼民. 植物内生及根围土壤细菌诱导棉花对大丽轮枝菌抗性的研究[J]. *中国生物防治*, 1996, 12(1): 7-10.
- [110] 吴蔼民, 顾本康, 付正擎, 等. 内生菌对棉花黄萎病的田间防效及增产作用[J]. *江苏农业科学*, 2000, (5): 38-39.
- [111] 林玲, 张爱香, 金中时, 等. 生防细菌与黄腐酸绿源宝促进棉花生长及防治黄萎病的效果[J]. *江苏农业学报*, 2006, 22(2): 122-126.
- [112] 丁国春, 付鹏, 李红梅, 等. 枯草芽孢杆菌 AR11 菌株对南方根结线虫的生物防治[J]. *南京农业大学学报*, 2005, 28(2): 46-49.
- [113] Rajkumar M, Ae N, Freitas H. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction[J]. *Chemosphere*, 2009, 77: 153-160.
- [114] Franco C, Michelsen P, Percy N, et al. Actinobacterial endophytes for improved crop performance[J]. *Australasian Plant Pathology*, 2007, 36: 524-531.
- [115] Shimizu M, Nakagawa Y, Sato Y, et al. Studies on endophytic actinomycetes *Streptomyces* sp. isolated from *Rhododendron* and its antifungal activity[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2000, 66: 360-366.
- [116] Nishimura T, Meguro A, Hasegawa S, et al. An endophytic actinomycete, *Streptomyces* sp. AOK-30, isolated from mountain Laurel and its antifungal activity[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2002, 68: 390-397.
- [117] 范永玲, 任璐, 刘秀英, 等. 番茄早疫病菌对3种杀菌剂的抗药性监测[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(26): 1143-1143.
- [118] 史赞, 马林, 韩巨才, 等. 植物内生放线菌 St24发酵液杀虫活性的研究[J]. *现代农业科技*, 2008(14): 107-108.
- [119] Funk CR, Halisky PM, Johnson MC, et al. A endophytic fungus and resistance to sod webwor association in *Lolium perenne*[J]. *Nature Biotechnology*, 1983, 1: 189-191.
- [120] White JF, Cole GT. Endophyte host associations in forage grass. *In vitro* inhibition of fungi by *Acremonium coenophialum*[J]. *Mycologia*, 1985, 77: 23-31.
- [121] Findlay JA, Ij G, Johnson JA. Bioactive compounds from needles[J]. *Canadian Journal of Chemistry*, 1997, 75: 716-719.
- [122] 李桂玲, 王建锋, 黄耀坚, 等. 几种药用植物内生真菌抗真菌活性的初步研究[J]. *微生物学通报*, 2001, 28(6): 64-68.
- [123] 班宜辉, 徐舟影, 杨玉荣, 等. 不同程度铅锌污染区丛枝菌根真菌和深色有隔内生真菌侵染特征[J]. *西北植物学报*, 2012, 32(11): 2336-2343.
- [124] Debbab A, AlyA H, Proksch P. Endophytes and associated marine derived fungi-ecological and chemical perspectives[J]. *Fungal Diversity*, 2012, 57(1): 45-83.
- [125] Flewelling AJ, Johnson JA. Bioactive natural products from North Atlantic algal endophytes[J]. *Planta Medica*, 2012, 78(11): 1155.