

植物内生菌的功能研究进展

张祺玲^{1 2} 杨宇红² 谭周进³ 谢丙炎²

(¹湖南农业大学生物安全科学技术学院,长沙 410128;²中国农业科学院蔬菜花卉研究所,北京 100081;

³湖南中医药大学基础医学院,长沙 410208)

摘要: 植物内生菌是一类种类丰富、生物学功能多样的微生物。由于它们与宿主植物长期进化,有了一些特殊的生物学功能。综述了内生菌的系列生物学功能,包括产生活性物质、固氮功能、促进植物生长、增强宿主植物抗性、他感作用、作为外源基因载体等,并总结了内生菌研究中要注意的方面。

关键词: 内生菌 内生菌功能 外源基因 他感

The Progress of Researches on Endophytic Functions in Vegetations

Zhang Qiling^{1 2} Yang Yuhong² Tan Zhoujin³ Xie Bingyan²

(¹School of Bio-safety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128;

²Institute of Vegetable and Flower, China Academy of Agricultural Science, Beijing 100081;

³School of Preclinical Medicine, TCM University of Hunan, Changsha 410208)

Abstract: Endophyte is a genus of microbe which can be divided into several categories and has various kinds of biological functions. After a long period of evolvement with the host vegetation, they have gained some special biological functions. This thesis was designed to provide a full description of the biological functions of endophytes. Endophytic bacteria can produce active materials. They can fix nitrogen, accelerate plant to grow, enhance the immune system and allelopathy of the host vegetation. In addition, they can be regarded as the carrier of exogenous genes. In this thesis, there was a brief summary of the aspects that should be paid special attention to in the process of carrying out researches on endophytic functions.

Key words: Endophyte Endophytic functions Exogenous gene Allelopathy

植物内生菌泛指那些在其生活史中的某一阶段生活在植物组织内,对植物组织不引起明显病害症状的微生物,包括那些在其生活史中的某一阶段营表面生活的腐生微生物,对宿主暂时没有伤害的潜伏性病原微生物和菌根菌^[1]。植物内生菌起源有两种假设,持内生说观点认为,内生菌是由植物细胞中的线粒体或叶绿体演变而来的,因此,它们与宿主植物具有相同或相似的遗传背景。持外生说观点认为,植物内生微生物来源于外界环境微生物,以不同方式进入植物组织中,通过水平和垂直方式进行传播,其遗传与代谢都与宿主在长期共同进化过程中

相互作用。不管哪种假设都可以看出内生微生物是有别于外界环境微生物的。对植物内生微生物的研究始于 19 世纪中叶,1977 年 Bacon 等^[2]发现高羊茅内生真菌与牛的中毒症状相关,到 1993 年 Stierle 等^[3]从短叶红豆杉的韧皮部分分离到一株产紫杉醇的内生真菌。植物内生微生物的研究工作广泛深入的发展起来。目前全世界至少已在 80 个属 290 多种禾本科植物中发现有内生真菌。近年来在甘蔗、玉米、水稻等禾本科农作物中还发现多种能固氮的内生细菌,在多种灌木、草本植物以及栽培作物、果树甚至藻类、苔藓和蕨类植物中也发现了内生真

收稿日期:2010-01-11

基金项目:科技部支撑计划课题(2006BAD08A08),国家重点基础研究发展规划项目(2009CB119200,2002CB111400)

作者简介:张祺玲,女,硕士研究生,研究方向:微生物资源开发利用;E-mail: yijing1985@tom.com

通讯作者:谭周进,教授,博士,主要从事微生物资源开发利用研究;E-mail: tanzhjin@sohu.com

谢丙炎,研究员,博士,主要从事植物病理学与生物安全研究;E-mail: xiebingyan2003@yahoo.com.cn

菌和(或)内生细菌^[4]。尽管内生微生物在植物体中的生物量不多,但现有研究认为内生菌可通过自身的代谢产物或存在本身借助于信号传导作用对植物体施加影响,并可产生丰富多样的具生物活性的代谢产物,在农业和医药业中具有重要的应用潜力。

1 植物内生菌产生的活性物质

植物内生菌可产生丰富多样的具生物活性的代谢产物,范围非常广泛,有抗肿瘤物质、抗生素类物质、抗菌物质和生长调节类物质等。

1.1 抗肿瘤活性物质

近年来,从植物内生菌特别是药用植物内生菌中寻找抗癌活性化合物的研究方兴未艾,从中发现分离到的抗肿瘤活性成分很多。活性成分从已知结构到全新结构都有报道。紫杉醇就是一种重要的抗肿瘤药物。1993年,Stierle等^[3]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安德鲁紫杉菌(*Taxomyces andrena*)并加以证明;随后研究者陆续从红豆杉中分离得到可生产紫杉醇的共生菌,包括小孢拟盘多毛孢(*Pestalotiopsis microspora*),尼泊尔盘端鹿角菌(*seimatoantlerium nepalense*),瘤座孢(*Tubercularia* sp.),树状多节孢(*Nodulisporium sylviforme*),头孢霉属(*Cephalosporium* sp.),轮柄梳霉属(*Martensiomycetes* sp.),葡萄孢属(*Botrytis* sp.),无孢菌群(*Mycelia sterilia*),北里孢菌属(*Kitasatospora* sp.)^[5-11]等。而在其它与红豆杉生长环境相同的植物中,同样能够找到可以产生紫杉醇的内生真菌,如Li等^[12]从落羽松中分离到产生紫杉醇的内生真菌小孢拟盘多毛孢(*Pestalotiopsis microspora*),孙瑞方等^[13]从罗汉松中分离到一株产生紫杉醇的烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)等。到目前为止,人们已发现多种内生菌可以产紫杉醇,充分证明了紫杉醇产生菌及其宿主的生物多样性。Torreyanic acid是一种选择性的具有细胞毒的苯醌二聚物,由分离自佛罗里达榿树(*Torreya taxifolia*)的内生真菌小孢拟盘多毛孢(*P. microspora*)产生^[14],该化合物具有较强的抗肿瘤作用,目前已被人工合成^[15]。细胞松弛素(cytochalasin)既具有抗肿瘤活性,又具有抗菌活性,但其细胞毒性很强,目前已经由植物内生菌产生了5种新的胞松素 cytochalasin(1-

5),试验证明均有抗肿瘤活性^[16,17]。长春新碱(vincristine)是目前应用最广的天然植物抗肿瘤药物之一;鬼臼毒素(podophyllotoxin)是一种具有特效的细胞毒性物质;目前已有研究表明从长春花以及鬼臼类植物中分离的某些内生菌也能产生类似的物质^[18,19]。此外,还有 Hormonmate, Cytonic acid A和B, Cytoskyrins A和B, Ras-法呢酰基转移酶抑制剂(Ras-farnesyltransferase inhibitor), nomofungin, dicerandrols A-C, Sequoiatone A-F和 Sequoiarmonascins A-D, 喜树碱, 雷菲德菌素(Brefeldin A), Chaetoglobins A和B等^[20-30]均为报道过的植物内生菌产生的抗肿瘤活性物质。

1.2 抗菌物质

植物内生菌是一大类产生抗菌物质的微生物,能产生多种具有不同抗菌活性的抗生物质,对植物、动物和人的病原菌产生抑制活性。内生菌产生的抗菌物质在植物体内转运,利于发挥防病作用。从杜鹃花植物中分离的链霉菌产生新的抗真菌物质 fistupyrone,对植物病原真菌甘蓝黑斑交链孢霉有抑制作用^[31];从卫矛科植物分离的内生链霉菌产生新 chloropyrrol 抗生素对多种耐药性细菌和分枝杆菌有抑制活性^[32];从蛇藤分离的内生链霉菌(*Streptomyces* NRRL 30562)可产生4种新的广谱抗生素 munumbicins,对耐药性细菌、腐霉以及疟原虫有抑制作用^[33,34];Kakadumycins是由分离自一种蕨类植物的内生放线菌链霉菌(*Streptomyces* NRRL30566)产生的多肽抗菌物质,对革兰氏阳性细菌具有很强的抗菌活性^[35];Coronamycin是由分离自龟背竹属植物的一株内生放线菌轮生链霉菌产生的多肽抗生素,对新生隐球菌和恶性疟原虫均有抑制作用^[36]。内生真菌和细菌也产生系列抗生素,Pseudomycins是由内生的丁香假单孢菌(*Pseudomonas syringae*)产生的脂肽类物质,该化合物对人体病原真菌如新生隐球菌和白假丝酵母等具有抗菌活性,也对一些植物病原微生物如榆长喙壳、球腔菌等具有抗菌活性^[37];Ecomycins是一类结构新颖的脂肽类化合物,是由寄生于禾本科植物叶中的绿黄假单孢菌(*Pseudomonas viridiflava*)产生的,该脂肽化合物对人体病原真菌如新生隐球菌和白假丝酵母等具有抗菌

活性^[38]。Cryptocandin 是一种多肽化合物,具有抗霉菌活性,是由分离自雷公藤的内生真菌 *Cryptosporiopsis cf. quercina* 产生的,对许多植物病原微生物如核盘菌和灰葡萄孢等有抗菌活性,还对一些重要的人类病原真菌如白假丝酵母、毛癣菌等有抗菌活性^[39],而分离自同一内生菌的 1 种新酰胺生物碱 cryptocin 对稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)及其它多种植物病原真菌有抑菌作用^[40]。Singh 等^[41]从一株内生真菌的发酵液中分离到一个二萜化合物 Guanacastepene,能损害细菌细胞膜; Kim 等^[42]从东北红豆杉内生真菌 *Periconia* sp. 中分离到有抗菌活性的 periconicins A(1) 和 B(2); 分离自玉米内生真菌枝顶孢霉(*Acremonium zeae* NRRL 13540) 的抗生素 pyrrocidines A 和 B 对黄曲霉和枯萎病菌有抗菌活性^[43]; *Muscodor crispans* 是野生凤梨的内生真菌,其产生的挥发性有机化合物 VOCs 不仅对植物病原菌腐霉、樟疫霉、核盘菌、球腔菌有抗菌活性,对人的病原菌鼠疫杆菌、结核分枝杆菌和葡萄球菌也有抗菌活性^[44]。

1.3 其它活性物质

内生菌可产生植物生长激素类物质,一些假单胞菌属、肠杆菌属、葡萄球菌属、固氮菌属以及固氮螺菌属等内生细菌的菌株可产生乙烯、生长素、细胞激动素等植物生长调节物质,对宿主植物的生长起促进作用^[45-46]; 兰科药用植物的 5 种内生真菌也能不同程度地产生植物激素赤霉素、吲哚乙酸、脱落酸、玉米素和玉米素核苷等^[47]。有的内生菌可产生抗病毒类物质,如 Cytonic acid A 和 B 是分离自内生真菌 *Cytonaema* sp. 的三缩酚酸类异构体,对人巨细胞病毒(hCMV) 蛋白酶有抑制作用^[24]。有的内生菌可产生杀昆虫物质, Findlay 等^[48]从伏卧白株树中分离的内生真菌中发现了两种香豆酮衍生物,都对云杉蚜虫具有毒性, Ju 等^[49]从内生菌感染的一种早熟禾中分离到数个对蚊子幼虫有毒性的黄酮类化合物, Naphthalene 是由藤蔓植物的内生真菌 *Muscoder vitigenus* 产生的,它可以有效地驱赶一些昆虫^[50]。Nodulisporic acids 是一种吲哚二萜类化合物,从内生真菌 *Nodulisporium* sp. 中发现,它具有杀灭大苍蝇幼虫的活性^[51]。有些药用植物内生菌也

可产生免疫抑制剂,分离自药用植物雷公藤的镰孢菌属内生真菌(*Fusarium subglutinans*) 能产生一种非细胞毒的二萜吡酮类化合物 Subglutanol A 和 B, 两者都具有免疫抑制活性^[52]。

2 固氮

植物内生固氮菌是指定植在植物内部与植物宿主联合固氮的固氮菌^[53]。目前已报道的内生固氮菌多为内生固氮细菌,包括固氮螺菌(*Azospirillum* spp.)、多黏类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)、成团肠杆菌(*Enterobacter agglomerans*)、阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)、粪产碱菌(*Alcaligenes faecalis*)、克雷伯氏菌(*Klebsiella* spp.)、草螺菌(*Herbaspirillum* spp.)、重氮营养醋杆菌(*Acetobacter diazotrophicus*)、固氮弧菌(*Azoarcus* spp.)、伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia* spp.) 等。有人认为内生固氮菌通过固氮为植物提供氮营养或者合成植物生长激素类物质从而促进植物生长^[54]。有的固氮菌也能有效地抑制不同病菌引起的植物病害。目前已有 3 个植物内生固氮菌 *Azoarcus* sp. strain BH72, *Klebsiella pneumoniae* 342 和 *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal5 进行了全基因组测序^[55-57]。虽然对内生固氮真菌报道较少,但 Lyons 等发现在低水平 N 源的土壤中,内生真菌 *Acremonium coenophialum* 可增加宿主对 N 素的吸收,如感染内生真菌的高羊茅叶片中的 N 素含量明显高于没有感染内生真菌的高羊茅^[58]。

3 促进植物生长

感染内生菌的植物具有比未感染植株生长快速的特点。内生菌促进植物生长的机制是多方面的,内生菌可通过生物固氮作用、合成铁载体协助宿主植物从土壤中吸收铁离子、合成或促进植物合成多种植物生长激素、促进宿主根系生长和对多种无机离子的吸收以及合成某些小分子物质或者酶(氨基环丙烷羧酸酶)、提高寄主植物对霜冻等有害环境条件及有害病原生物的敏感性等方面来促进植物生长^[59]。

4 他感

德国学者 Molisch 于 1937 年提出了他感作用(allelopathy) 的概念,他认为植物的他感作用就是

一种植物通过向体外分泌代谢过程中的化学物质,对其它植物产生直接或间接的影响,这种作用是种间关系的一部分,是生存竞争的一种特殊形式。高等植物之间、高等植物与微生物之间、微生物和微生物之间都存在他感作用。他感作用的物质包括乙烯、香精油、酚及其衍生物、不饱和内脂、生物碱、配糖体等。感染内生细菌的红花车轴草具有抑制玉米生长的他感作用^[60]。牧草内生菌产生的毒麦碱对邻近植物有较强的他感作用,以至在一定范围内感染内生菌的牧草连年蔓延,使得其它植物不能生长^[61]。在木本植物中,也已发现由于感染内生菌,使得害虫对该植物的取食频率大为降低。

5 增强植物抗性

感染内生菌的牧草对环境胁迫如干旱以及铝的毒害等具有更强抗性。内生菌还可增强宿主对各种其他生物如病原细菌和真菌、线虫、昆虫及哺乳动物的抗性,保护宿主免受危害。何红等从辣椒中分离 108 株内生细菌,28.7% 的菌株对香蕉枯萎菌和黄瓜枯萎菌有拮抗作用,其中一株内生枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)对植物炭疽病菌和番茄青枯病菌等多种植物病原真菌和细菌有强烈的抑制作用^[62-63]。袁军等^[64]从马铃薯块茎中分离到 133 株内生细菌,有 40 株对环腐病菌有拮抗作用,占总菌株的 30%。有研究表明,豆科植物的根际细菌与 VA 菌根相互作用,促进 VA 菌根菌孢子的提前萌发,进入植物参与植物的养分运输,帮助植物吸收营养,提高光合作用,从而提高植物抗干旱、盐碱等胁迫的能力、增强抗病能力^[65];其次内生菌还可以通过病原微生物竞争生态位和诱导植物产生系统抗性(ISR)^[66]来增强植物的抗性。

6 对植物病虫害的防治

内生微生物对植物病菌病害具有防治作用的例子很多。王万能等从烟草根、茎和叶中筛选到的 1 株内生细菌,对小麦纹枯病病菌、棉花立枯病病菌、烟草灰霉病病菌、烟草炭疽病病菌、棉花枯萎病病菌和烟草疫霉菌等有抑制作用,在温室栽培试验中,对烟草疫霉菌引起的烟草黑胫病有较高的防效,其防效达 69.23%^[67]。Coombs 研究小

组从小麦根部分离的 60 多株放线菌筛选到防治小麦全蚀病的菌株,在温室试验中可使小麦全蚀病的危害降低 70%^[68]。研究表明,荧光假单胞菌 89B-61、孢囊假单胞菌 N884、黏质沙雷氏菌 90-43 和枯草芽孢杆菌的代谢产物能够防治南方根结线虫^[69]。

7 促进植物修复作用

植物修复是一种“温和”的生物修复技术,因其低廉的成本正在成为一种被广泛接受的污染治理方式。当前对植物修复作用的研究主要针对两大类污染物:硝基芳香族和杂酚类等有机污染物及镍、铬、锌等重金属污染物^[70]。Siciliano 等^[71]的研究表明,植物与细菌联合可以促进根际污染物质的降解,一些不能被根际细菌降解的有机污染物可能会在植物中累积,存在于植物体内的某些细菌可以有效地降解累积于植物维管束中的有毒化合物,从而减轻土壤污染物对植物的毒害作用,使植物可以进行自我修复。Lodewyckx 等^[72]发现在植物根部接种内生菌时,根部的镍浓度较对照提高了 30%,表明内生细菌可以提高重金属污染的植物修复作用。当然,能促进植物修复的内生菌并不能降解每一种污染物,也不一定能在污染物环境中定殖成功。因此,随着基因工程技术的发展,工程内生菌慢慢发展起来,Barac 等^[73]的工程内生细菌就能提高对水溶性可挥发的有机污染物的植物修复。

8 外源基因的载体

将某些基因导入到内生细菌中,提高植物的抗病虫能力,而植物本身的基因并未发生改变,这样可以保持植物的天然性状。许多研究者都认为植物内生细菌是很好的外源基因载体,Kostka 首次将苏云金芽孢杆菌毒素基因构建于内生细菌木质棍状杆菌犬齿亚种(*Clavibacter xyli* subsp. *cyndontis*)中进行玉米螟虫生物防治,大田试验中,玉米螟为害率可降低 26% - 72%,开创了内生细菌作为杀虫基因载体的先例^[74]。刘云霞等^[75]用水稻内生优势细菌巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)为受体,构建了具有防水稻二化螟活性的工程菌。Downing 等^[76]将 *chiA* 基因转入分离自苹果苗的内生细菌荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)中,再将带 *chiA* 基因的内生

细菌通过根尖导入豆科植物(*Phaseolus vulgaris*) 中, 对豆苗立枯病(*Rhizoctonia solani*) 等表现出良好的生防作用。

9 存在的问题

植物内生菌种类丰富, 生物学功能各异, 开发利用植物内生菌具有非常大的潜力。然而, 从目前的研究成果来看, 还存在一系列的问题需要解决:

(1) 由于内生菌与宿主植物长期进化, 与宿主植物形成了共生关系, 因此, 在内生菌的分离工作中, 很多内生菌分离出来后, 很快失活, 无法进行下一步工作, 并且很多内生菌的次生代谢产物, 特别是未知的物质因为量少而很难被检测到; (2) 不可培养内生菌在内生菌多样性中占据了很大一部分, 但到目前为止, 研究比较多的均是可培养的内生菌的功能, 对不可培养的内生菌功能的了解还很少; (3) 很多内生菌都有不同的生物活性, 像促进植物生长、抗病害、抗逆等, 但具体是由哪些化合物怎样配伍引起却还很少有具体报道; (4) 从植物内生菌次生代谢产物中筛选具有药用价值的活性物质或新型化合物以创制新药, 解决自然资源不足, 开发紧缺及新型药物是未来研究重点之一, 但大多数次级代谢产物产量并不很高; (5) 内生菌参与生物防治过程是一个系统工程, 植物的栽培条件, 栽培措施, 自然环境(环境中残留农药, 化肥), 微生态环境(土壤抑菌作用), 细菌的形态稳定性等都对内生菌发挥最大的生防功能形成了障碍。只有通过植物内生菌全面系统的研究, 并借助于其它学科的研究方法和手段, 才能推动植物内生菌研究的不断深入。

参考文献

- [1] Strobel G, Stierle A, Stierle D, Hess WM. *Taxomyces andreanae*, a proposed new taxon for a bulbilliferous hyphomycete associated with Pacific yew(*Taxus brevifolia*). *Mycotaxon*, 1993, 47: 71-80.
- [2] Bacon CW, Porter JK, Robbins JD, Luttrell ES. *Epichloe typhina* from toxic tall fescue grasses. *Applied and Environmental Microbiology*, 1977, 34(5): 576-581.
- [3] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*, 1993, 260(5105): 214-216.
- [4] 邹文欣, 谭仁祥. 植物内生菌研究新进展. *植物学报: 英文版*, 2001, 43(9): 881-892.
- [5] Strobel G, Yang X, Sears J, et al. Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallachiana*. *Microbiology*, 1996, 142(2): 435-440.
- [6] 王建锋, 林石明. 一株新的紫杉醇产生菌及其抗肿瘤活性. *厦门大学学报: 自然科学版*, 1999, 38(4): 485-487.
- [7] 周东坡, 平文祥. 紫杉醇产生菌分离的研究. *微生物学杂志*, 2001, 21(1): 18-19.
- [8] 郭晓静, 王俊鹏, 宋晓平, 等. 南方红豆杉产紫杉醇内生真菌的分离鉴定. *西北植物学报*, 2007, 27(9): 1874-1878.
- [9] 王伟, 贺雄雷. 南方红豆杉内生菌及紫杉烷类产物的初步鉴定. *中山大学学报: 自然科学版*, 1999, 38(3): 116-118.
- [10] Caruso M, Colombo AL, Crespi-Perellino N, et al. Studies on a strain of *Kitasatospora* sp. paclitaxel producer. *Annals of Microbiology*, 2000, 50(2): 89-102.
- [11] Bashyal B, Li JY, Strobel G, et al. *Seimatoantlerium nepalense*, an endophytic taxol producing coelomycete from himalayan yew(*Taxus wallachiana*). *Mycotaxon*, 1999, 72: 33-42.
- [12] Li J, Strobel G, Sidhu R, et al. Endophytic taxol-producing fungi from bald cypress, *Taxodium distichum*. *Microbiology*, 1996, 142(8): 2223-2226.
- [13] 孙端方, 冉雪琴, 王嘉福. 一株产紫杉醇罗汉松内生真菌的分离和鉴定. *微生物学报*, 2008, 48(5): 589-595.
- [14] Lee JC, Strobel GA, Lobkovsky E, Clardy J. Torreyanic acid: a selectively cytotoxic quinone dimer from the endophytic fungus *Pestalotiopsis microspora*. *J Org Chem*, 1996, 61(10): 3232-3233.
- [15] Li C, Johnson RP, Porco Jr JA. Total synthesis of the quinone epoxide dimer(+) torreyanic acid: application of a biomimetic oxidation/electrocyclization/Diels-Alder dimerization cascade. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125(17): 5095-5106.
- [16] Wagenaar MM, Corwin J, Strobel G, Clardy J. Three new cytochalasins produced by an endophytic fungus in the genus *Rhinochlaia*. *J Nat Prod*, 2000, 63(12): 1692-1695.
- [17] Xu S, Ge HM, Song YC, Shen Y, Ding H, Tan RX. Cytotoxic cytochalasin metabolites of endophytic *Endothia gyrosa*. *Chemistry & Biodiversity*, 2009, 6(5): 739-745.
- [18] Yagn X, Zhang L, Guo B. Preliminary study of a vincristine-producing endophytic fungus isolated from leaves of *Catharanthus roseus*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2004, 35(1): 79-80.
- [19] 杨显志, 郭仕平, 张玲琪, 邵华. 鬼臼类植物产鬼臼毒素内生真菌的筛选. *天然产物研究与开发*, 2003, 15(5): 419-422.
- [20] Ge HM, Zhang WY, Ding G, et al. Chaetoglobins A and B, two unusual alkaloids from endophytic *Chaetomium globosum* culture. *Chemical Communications*, 2008(45): 5978-5980.
- [21] 刘吉华, 余伯阳. 喜树内生真菌的分离及其抗肿瘤活性代谢产物的筛选方法. *植物资源与环境学报*, 2004, 13(4): 6-10.

- [22] 方美娟, 王建锋, 赵玉芬, 等. 用 HPLC-MS-MS 快速分析和鉴定三尖杉植物内生真菌发酵液中的 Brefeldin A. 分析测试学报, 2005, 24(1): 21-24.
- [23] Ratnayake AS, Yoshida WY, Mooberry SL, Hemscheidt TK. Nomo-fungin: a new microfilament disrupting agent. Journal of Organic Chemistry 2001, 66(26): 8717-8721.
- [24] Guo B, Dai JR, Ng S, et al. Cytonic acids A and B: novel tridepside inhibitors of hCMV protease from the endophytic fungus *Cytonaema* species. J Nat Prod 2000, 63(5): 602-604.
- [25] Stierle AA, Stierle DB, Bugni T. Sequoiatones A and B: novel anti-tumor metabolites isolated from a redwood endophyte. The Journal of Organic Chemistry 1999, 64(15): 5479-5484.
- [26] Stierle AA, Stierle DB, Bugni T. Sequoiatones C-F, constituents of the redwood endophyte *Aspergillus parasiticus*. J Nat Prod 2001, 64(10): 1350-1353.
- [27] Stierle DB, Stierle AA, Bugni T. Sequoiamonascins A-D: novel anti-cancer metabolites isolated from a redwood endophyte. J Org Chem, 2003, 68(12): 4966-4969.
- [28] Wagenaar MM, Clardy J. Dicerandrols, new antibiotic and cytotoxic dimers produced by the fungus *Phomopsis longicolla* isolated from an endangered mint. J Nat Prod 2001, 64(8): 1006-1009.
- [29] Brady SF, Singh MP, Janso JE, Clardy J. Cytoskyrins A and B, new BIA active bisanthraquinones isolated from an endophytic fungus. Org Lett 2000, 2(25): 4047-4049.
- [30] Ishii T, Hayashi K, Hida T, et al. TAN-4813, a novel Ras-farnesyl-transferase inhibitor produced by *Phoma* sp. taxonomy, fermentation, isolation and biological activities *in vitro* and *in vivo*. The Journal of Antibiotics 2000, 53(8): 765-778.
- [31] Igarashi Y, Ogawa M, Sato Y, et al. Fistupyron, a novel inhibitor of the infection of Chinese cabbage by *Alternaria brassicicola*, from *Streptomyces* sp. TP-A 0569. Journal of Antibiotics 2000, 53(10): 1117-1122.
- [32] Pullen C, Schmitz P, Meurer K, et al. New and bioactive compounds from *Streptomyces* strains residing in the wood of Celastraceae. Planta 2002, 216(1): 162-167.
- [33] Castillo UF, Strobel GA, Ford EJ, et al. Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigricans*. Microbiology 2002, 148(9): 2675-2685.
- [34] Castillo UF, Strobel GA, Mullenberg K, et al. Munumbicins E-4 and E-5: novel broad-spectrum antibiotics from *Streptomyces* NRRL 3052. FEMS Microbiology Letters 2006, 255(2): 296-300.
- [35] Castillo U, Harper JK, Strobel GA, et al. Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* sp. NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia*. FEMS Microbiology Letters, 2003, 224(2): 183-190.
- [36] Ezra D, Castillo UF, Strobel GA, et al. Coronamycins, peptide antibiotics produced by a verticillate *Streptomyces* sp. (MSU-2110) endophytic on *Monstera* sp.. Microbiology 2004, 150(4): 785-793.
- [37] Ballio A, Bossa F, DiGiorgio P, et al. Structure of the pseudomycins, new lipodepsipeptides produced by *Pseudomonas syringae* MSU 16H. FEBS Lett 1994, 355: 96-100.
- [38] Miller CM, Miller RV, Carton-Kenny D, et al. Ecomycins, unique antimycotics from *Pseudomonas viridiflava*. Journal of Applied Microbiology 1998, 84(6): 937-944.
- [39] Strobel GA, Miller RV, Martinez-Miller C, et al. Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. Microbiology 1999, 145(8): 1919-1926.
- [40] Li JY, Strobel G, Harper J, et al. Cryptocin, a potent tetramic acid antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. Org Lett 2000, 2(6): 767-770.
- [41] Singh MP, Janso JE, Luckman SW, et al. Biological activity of guanacastepene, a novel diterpenoid antibiotic produced by an unidentified fungus CR 115. Journal of Antibiotics 2000, 53(3): 256-261.
- [42] Kim S, Shin DS, Lee T, Oh KB. Periconicins, two new fusicoccane diterpenes produced by an endophytic fungus *Periconia* sp. with antibacterial activity. J Nat Prod 2004, 67(3): 448-450.
- [43] Wicklow DT, Roth S, Deyrup ST, Gloer JB. A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. Mycological Research 2005, 109(5): 610-618.
- [44] Mitchell AM, Strobel GA, Moore E, et al. Volatile antimicrobials from *Muscador crispans*, a novel endophytic fungus. Microbiology, 2009, 156(Pt1): 270-7.
- [45] Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF, Kloepper JW. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology 1997, 43(10): 895-914.
- [46] Ramesh R, Joshi AA, Ghanekar MP. Pseudomonads: major antagonistic endophytic bacteria to suppress bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* in the eggplant (*Solanum melongena* L.). World Journal of Microbiology and Biotechnology 2009, 25(1): 47-55.
- [47] 张集慧, 郭顺星. 兰科药用植物的 5 种内生真菌产生的植物激素. 中国医学科学院学报, 1999, 21(6): 460-465.
- [48] Findlay JA, Buthelezi S, Li G, et al. Insect toxins from an endophytic fungus from wintergreen. Journal of Natural Products (Print), 1997, 60(11): 1214-1215.
- [49] Ju Y, Sacalis JN, Still CC. Bioactive flavonoids from endophyte-infected blue grass (*Poa ampla*). J Agric Food Chem, 1998, 46(9): 3785-3788.
- [50] Daisy BH, Strobel GA, Castillo U, et al. Naphthalene, an insect repellent is produced by *Muscador vitigenus*, a novel endophytic fungus. Microbiology 2002, 148(11): 3737-3741.
- [51] Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J. Natural products from endophytic microorganisms. J Nat Prod 2004, 67(2): 257-268.

- [52] Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2003 67(4): 491-502.
- [53] Baldani JJ, Olivares FL, Hemery AS, et al. Nitrogen-fixing endophytes: recent advances in the association with graminaceous plants grown in the tropics. Paper presented at: Biological nitrogen fixation for the 21st century. Netherlands: Kluwer Academic Pub, 1997.
- [54] 王桂文, 李海鹰, 范嘉晔. 甘蔗内生固氮菌研究. *广西农业生物科学* 2000 19(1): 68-72.
- [55] Bertalan M, Albano R, Padua V, et al. Complete genome sequence of the sugarcane nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5. *BMC Genomics* 2009 10(1): 450.
- [56] Krause A, Ramakumar A, Bartels D, et al. Complete genome of the mutualistic N₂-fixing grass endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72. *Nature Biotechnology* 2006 24(11): 1385-1391.
- [57] Fouts DE, Tyler HL, DeBoy RT, et al. Complete genome sequence of the N₂-fixing broad host range endophyte *Klebsiella pneumoniae* 342 and virulence predictions verified in mice. *PLoS Genetics* 2008 4(7): e1000141.
- [58] Lyons PC, Evans JJ, Bacon CW. Effects of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* on nitrogen accumulation and metabolism in tall fescue. *Plant Physiology* 1990 92(3): 726-732.
- [59] Schippers B, Bakker AW, Bakker P, Peer R. Beneficial and deleterious effects of HCN-producing pseudomonads on rhizosphere interactions. *Plant and Soil* 1990 129(1): 75-83.
- [60] Sturz AV, Christie BR. Endophytic bacteria of red clover as agents of allelopathic clover-maize syndromes. *Soil Biology and Biochemistry* 1996 28(4-5): 583-588.
- [61] Clay K, Holah J. Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in successional fields. *Science* 1999 285(5434): 1742-1744.
- [62] 何红, 蔡学清. 辣椒内生细菌的分离及拮抗菌的筛选. *中国生物防治* 2002 18(4): 171-175.
- [63] 何红, 蔡学清, 关雄, 等. 内生菌 BS-2 菌株的抗菌蛋白及其防病作用. *植物病理学报* 2003 33(4): 373-378.
- [64] 袁军, 孙福在. 防治马铃薯环腐病有益内生细菌的分离和筛选. *微生物学报* 2002 42(3): 270-274.
- [65] Buchenauer H. Biological control of soil-borne disease by rhizobacteria. *J Plant Disease and Protection* 1995 44: 40-50.
- [66] Ramamoorthy V, Viswanathan R, Raguchander T, et al. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection* 2001 20(1): 1-11.
- [67] 王万能, 全学军, 肖崇刚. 烟草内生细菌对烟草病害的拮抗和防治作用. *烟草科技* 2006(1): 54-57.
- [68] Coombs JT, Franco CMM. Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots. *Applied and Environmental Microbiology* 2003 69(9): 5603-5608.
- [69] 葛红莲, 陈龙, 纪秀娥, 高智谋. 植物内生细菌作为生防因子的研究进展. *河南农业科学* 2006(11): 12-15.
- [70] 韩继刚, 宋未. 植物内生细菌研究进展及其应用潜力. *自然科学进展* 2004 14(4): 374-379.
- [71] Siciliano SD, Fortin N, Mihoc A, et al. Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Applied and Environmental Microbiology* 2001 67(6): 2469-2475.
- [72] Lodewyckx C, Taghavi S, Mergeay M, et al. The effect of recombinant heavy metal-resistant endophytic bacteria on heavy metal uptake by their host plant. *International Journal of Phytoremediation* 2001 3(2): 173-187.
- [73] Barac T, Taghavi S, Borremans B, et al. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. *Nature Biotechnology* 2004 22(5): 583-588.
- [74] Andrews JH. Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology* 1992 30(1): 603-635.
- [75] 刘云霞, 张青文. Bt 杀虫基因向水稻内生细菌的转化研究. *农业生物技术学报* 1997 5(2): 188-193.
- [76] Downing KJ, Thomson JA. Introduction of the *Serratia marcescens* *chiA* gene into an endophytic *Pseudomonas fluorescens* for the bio-control of phytopathogenic fungi. *Canadian Journal of Microbiology* 2000 46(4): 363-369.