

# 植物内生菌研究进展

陈龙 梁子宁 朱华

(广西中医药大学, 南宁 530001)

**摘要:** 植物内生菌是指生活史中某一阶段生活在植物组织内, 对植物没有明显病害症状的一类微生物, 研究发现其主要包括内生细菌、内生真菌和内生放线菌。内生菌能够产生与宿主植物相同或相似的活性物质, 从而拓宽了药用资源并且具有巨大的应用价值。从植物内生菌的分布规律及其生长特点, 与宿主植物的关系, 研究领域以及发展现状与存在问题等方面进行了综述, 并对植物内生菌在药用资源开发中的前景进行了展望。

**关键词:** 植物内生菌; 与宿主植物关系; 生物活性; 研究领域

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2015.08.005

## Research Advances in the Studies of Plant Entophytic

Chen Long Liang Zining Zhu Hua

(Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001)

**Abstract:** Entophyte is a kind of micro living organism that lives within a plant for at least a certain period of its life without causing apparent symptoms of disease to the plant. The studies found out that it mainly includes entophytic bacteria, entophytic fungi, and entophytic actinomycetes. Entophyte can produce active substances similar to that of the host plant, which thereby broadens the medicinal resources and correspondingly have a great application value. The authors summarize the following aspects: the distribution patterns and growing characteristics of entophyte, its symbiotic relationship with the host plant, its research fields and current situation of development, together with existing problems. Also, authors forecast the prospects of entophytes utilized in the development of medicinal resources.

**Key words:** plant entophyte; symbiotic relationship with the host plant; bioactivity; research field

植物内生菌是指其生活史中某一阶段或整个阶段生活在生长健康的植物组织或细胞内, 并对宿主植物没有引起明显病害症状的一类微生物群, 其主要包括内生细菌、内生真菌、内生放线菌这三种类群<sup>[1]</sup>。由于近代农业, 畜牧业, 食品加工业几次重大的中毒事件植物内生菌才逐渐引起人们和科学家的重视。因此, 关于植物内生菌的研究才慢慢的开展起来。直至 1993 年 Stierle 报道了从短叶红豆杉 (*Taxusbrevifolia* Nutt.) 中能分离出一种能产生抗癌活性成分紫杉醇的内生菌<sup>[2]</sup>。至此人们经过数十年的研究发现, 植物内生菌和其宿主之间存在着相互

依存及互惠的关系。目前, 人们已经渐渐地从植物内生菌中找到与宿主相似的天然化合物成分, 这不仅拓宽了药用植物资源, 同样也促进了对稀有珍贵物种的保护和持续发展。除此之外, 对植物内生菌的次生代谢的研究也悄然展开。近几年, 有研究表明从植物内生菌中分离出的次生代谢产物也存在着生物活性成分<sup>[3]</sup>。当前, 植物内生菌的研究已经成为植物学、植物保护学、农药学、生药学和中药资源学等学科领域的研究热点, 其在农业、林业及医药领域具有重要的研究开发价值。本文就近 10 年来植物内生菌及其代谢产物的相关研究作如下简要

收稿日期: 2014-11-19

基金项目: 广西研究生教育创新计划 (YCSZ2014171), 广西壮族自治区自然科学基金项目 (2012GXNSFAA053119)

作者简介: 陈龙, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药资源开发与利用; E-mail: chenglong198808@yeah.com

通讯作者: 梁子宁, 博士, 副教授, 研究方向: 药用植物资源评价与开发利用; E-mail: 381668307@qq.com

综述。

## 1 植物内生菌的分布规律

植物内生菌普遍存在于植物的根茎叶果实等器官和组织细胞中,并且广泛地存在于藻类、苔藓、蕨类植物、裸子植物和被子植物中。目前,植物内生菌的研究主要集中在裸子植物和被子植物这两类植物。内生菌的分布规律取决于宿主本身及内生菌的种类,在宿主不同器官的分布存在着差异<sup>[4-10]</sup>。研究表明,植物内生菌的分布规律受植物的种类、地理位置、生长环境和气候条件等因素的影响。因此内生菌也具有丰富的生物多样性。植物内生菌的种类繁多,但主要包括真菌、细菌和放线菌,其中内生真菌是当前内生菌研究的热点。

## 2 内生菌与宿主植物之间的关系

内生菌和宿主植物由于二者生活环境和习性的不同,因此也决定了二者之间关系的复杂性和特殊性。对于内生菌的起源有学者认为,内生菌可能通过多种途径从宿主体外进入宿主体内。如宿主植物及种子的表面,自然孔口处或伤口处和直接破坏细胞壁成分侵入等<sup>[11,12]</sup>。内生菌与宿主在长期共处这种复杂而又特殊的关系中,会因自身生理状况,环境变化等内外因素的变化而发生相互转化<sup>[11]</sup>。同时,不同的内生菌对宿主的专一性也有很大差别。有的只与一种植物共生,有的可以和多种植物共生<sup>[13]</sup>。

### 2.1 内生菌对宿主植物的影响

**2.1.1 促进宿主植物的生长** 许多研究表明,内生菌可促进宿主植物的生长发育,增加宿主植物的总生物量,单株花序数量和种子数量,提高植物种子的饱满率和发芽率,促进幼苗存活和分蘖生长等<sup>[14]</sup>。内生菌的这种促进植物生长作用可以从两方面理解<sup>[15-19]</sup>。一方面,许多内生真菌可以产生生长素、赤霉素和细胞激动素等植物生长激素;另一方面,内生菌能够增加植物的固氮能力和对钾、钙、磷等营养元素的吸收。

**2.1.2 增强宿主植物的抗逆性** 内生菌能够增强宿主植物在不利的外界环境中的抗性,主要表现在抗旱、耐热、抗病虫害和对病原体拮抗等方面。研究表明,感染内生菌的植物比未感染的植物在应激环境中的适应性明显增强。许多资料证明内生菌与植

物的共生协助了早期植物在一些恶劣、贫瘠的土壤上生存。当植物感染内生菌后,其某方面的抗逆性明显增强,从而提高了该植物在逆境环境中存活的几率<sup>[10,11,20,21]</sup>。

**2.1.3 对宿主植物的毒性作用或抑制作用** 内生菌在侵染宿主初期或者在长期的共存中,由于外界环境的改变,以及非寄主生物的入侵而产生有毒物质或溶解酶。这种毒性物质和溶解酶一般是非专一性的,会对宿主植物细胞组成,植物的生理功能以及对其敏感的非寄主生物造成毒害损伤或抑制作用,从而促进其生长或是获取有利的生长空间和营养物质<sup>[11,22,23]</sup>。

**2.1.4 促进宿主植物次生代谢产物的产生** 内生菌能够促进宿主植物次生代谢产物的产生,可能主要由以下两种原因造成:第一种可能,由于内生菌和宿主植物在基因层面的变化产生了信息传导通路,导致其与宿主产生相同或相似的次生代谢产物<sup>[11,14]</sup>;第二种可能,内生菌参与了宿主植物体内的生物合成代谢。内生菌在次生代谢产物的合成途径中协同或催化关键酶类或蛋白的合成<sup>[24,25]</sup>。

### 2.2 宿主植物对内生菌的影响

内生菌对于植物来说始终是一个异物。当内生菌侵入植物体时,植物自身会对其产生应激反应。这种反应一般可能分为两种,一种呈现抵抗作用<sup>[11,22,23]</sup>,如形成机械障碍;另一种与植物体形成共生结构<sup>[26,27]</sup>,如兰科植物的菌根。

**2.2.1 宿主植物对内生菌的抵抗反应** 对于植物对侵入自身的内生菌的抵抗作用,研究认为在宿主植物和侵染的内生菌或病原菌都是受特殊基因控制的。特殊基因的调控作用控制着植物是否具有抵抗作用。当植物细胞表面具有与病原菌表面互补的糖蛋白时,植物的抵抗作用会因此受到激发,其本身产生抗病性。反之,植物由于不能产生抗病性蛋白而感病<sup>[22,28]</sup>。

侵入的内生菌不能适应宿主植物的内环境也是宿主植物对内生菌的抵抗反应的一种表现形式,即植物本身不能为寄主内生菌的生长提供必需的营养物质和适宜的生长环境<sup>[22,23]</sup>,如温度、湿度、氧气和酸碱度等。

除此之外, 宿主植物体内存在着内生菌萌发, 生长的抑制因子。如体内含有一些化学成分能够抑制真菌孢子的萌发<sup>[29]</sup>; 或是宿主植物本身细胞结构或者真菌侵染后的应激反应导致宿主植物细胞结构改变, 给内生菌在宿主植物内部的定殖、生长和孢子的萌发形成了机械障碍<sup>[11, 22]</sup>。如细胞壁增厚、营养流失等。

**2.2.2 宿主植物与内生菌形成共生体** 有些内生菌侵入宿主植物内部以后, 会与宿主本身形成一种有规律的互利结合的共生体。这种共生结构使内生菌和宿主植物在生理结构, 营养物质输送, 能量分配等方面达到了一种平衡。这种平衡关系的建立和稳定, 是维护内生菌和宿主植物的共生生活的关键, 同时对于内生菌和宿主植物二者本身的生长生活又有互利互惠作用, 彼此通过自己本身的生长特点和结构特点来弥补对方生长的缺陷或对外界艰苦环境的适应。如兰科植物天麻和密环菌, 松科植物的菌根菌<sup>[30, 31]</sup>。

**2.2.3 内生菌对植物宿主的优势选择** 宿主植物的内环境是内生菌赖以生存的外界环境。不同的宿主植物对内生菌的影响是不同的。即便是同科同属中该植物的不同变种, 内生菌也会选择那些利于自己的生长的植物宿主。王梅霞等<sup>[32]</sup>研究发现杜仲 (*Eucommia ulmoides*) 叶片中内生真菌的类群存在着优势群落现象, 而且在两地之间植物组织中的优势群落存在着不同程度的差异。

### 3 植物内生菌的研究内容

#### 3.1 菌株的分离纯化

常采用组织块法<sup>[4-6, 33, 34]</sup>。在宿主细胞不同组织器官中, 如根、茎、叶、花及果实等取若干克或小块 (根据具体实验而定) 并按常规程序进行消毒。无菌条件下将处理后的植物组织 (枝条、根的韧皮部或叶子等) 切成适当大小的小方块。将其放在 PDA 或其他培养基上, 25–30℃, 培养 3–7 d。待组织块段面边缘有菌丝长出后, 挑去前端菌丝转入另一 PDA 平板培养基, 经纯化, 得到单一菌落后, 斜面保存备用。实验的方法步骤可根据实验要求进行调整。除此之外, 还可根据分离目的的不同, 选择含有不同培养基质的分离培养基分离目标菌种。如

含抑菌剂的培养基, 含植物组织提取的培养基和低营养的培养基<sup>[35-37]</sup>。

#### 3.2 菌株生物形态特性及种类鉴定

内生菌的形态结构和生理结构易受到培养环境的影响, 给研究菌株工作带来了很大的难度。利用生物形态学特性研究, 不仅能够确定菌株的性状大小, 颜色纹饰和菌落形态和质地等生理习性, 同时又能对菌株的分类鉴定提供依据<sup>[38, 39]</sup>。因此对菌株生物特性研究已经成为人们研究内生菌的一项重要方法。通常对菌株生物特性研究主要分为营养因子和物理化学因子两部分<sup>[23, 38, 39]</sup>。如菌株的碳源、氮源、无机盐、生长因子、维生素等营养因子和温度、湿度、光照、空气和 PH 值等物理化学因子。

由于内生菌的形态结构受到培养环境的影响, 所以通过菌丝形态、产孢结构和形态, 依靠生物形态学鉴定已难以准确鉴定出内生菌的属种。分子生物学方法是通过测定菌株的核酸组成来判断菌株的亲缘关系, 从而克服和弥补了传统形态鉴定的不足<sup>[38-40]</sup>。目前, 对于菌株的鉴定主要采取以分子生物学方法为主, 经典生物形态学观察法为辅的方式来确定菌株的属种。

#### 3.3 菌株及其次生代谢产物的生物活性及成分研究

植物内生菌及其次生代谢活性成分通常具有抗肿瘤、抑菌及杀虫的作用<sup>[3-5, 10, 41-43]</sup>。因此, 通过分离植物内生菌来获得具有生物活性的化学成分研究已经成为医药和农业生物防治领域开发研究的一个热点。相关研究文献表明, 其作用机制主要分别为阻断或干扰促进肿瘤细胞分裂的关键酶类及蛋白质的合成, 破坏细菌细胞壁和细胞膜的结构, 改变细胞膜的通透性, 或是阻碍细菌蛋白质的合成及表达, 最终致使细菌正常生理功能受损而死亡以及产生具有细胞毒性的成分改变害虫的生理功能或细胞结构<sup>[9, 22, 28, 41-44]</sup>。随着分离纯化技术的快速发展, 以及高效液相、气质联用及核磁共振等化学结构测定新技术和方法的应用。从植物内生菌种分离出的药用活性成分不断增加, 主要包括多糖、多肽类、萜类、醌类、黄酮类、生物碱类、芳香类和脂肪酸类等化合物<sup>[8, 9, 25, 39, 41-48]</sup>。

#### 4 内生菌在药用植物中的研究现状

经过不断的研究探索,我们可以确定植物内生菌能够产生与宿主植物相同或相似的特有药用成分,这不仅拓宽了药用资源,同时也使一些濒临灭绝的珍贵物种得到一定程度的保护。除此之外,内生菌还影响着药用植物的道地性<sup>[13, 14]</sup>。但是从众多研究实验及文献记载中可以看出,药用植物内生菌的研究主要集中在被子植物和裸子植物,而在蕨类植物和苔藓类植物的研究非常少。同样,对内生真菌的研究也要比内生细菌和放线菌多,研究有益菌比有害菌多,并且研究的方法和手段比较单一,而对于内生菌的起源以及作用机理目前还不明确<sup>[49]</sup>。

#### 5 展望

综上所述,植物内生菌种类丰富蕴藏量大,加之其特殊的生存方式,因此对于药用资源的开发,是一个拥有巨大开发潜力的宝库。但目前对植物内生菌的研究还处于探索阶段,研究的领域比较有限。例如,对植物内生菌的研究多,而对动物内生菌的研究较少<sup>[50]</sup>。在研究方法和技术上,对植物内生菌的研究也主要集中在对能产生与宿主植物相同或相似活性物质的内生真菌筛选上,其涉及的研究领域比较局限。未来的研究中应重视内生菌起源以及与宿主植物之间作用机理的研究。

#### 参考文献

- [1] 邓墨渊,王伯初,杨再昌,等. 分子生物学技术在植物内生菌分类鉴定中的应用[J]. 氨基酸和生物资源, 2006, 28(3): 9-14.
- [2] 贾栗,陈疏影,翟永功,等. 近年国内外植物内生菌产生活性物质的研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(11): 1750-1754.
- [3] 杜慧娟,王伯初,米鹏程,等. 药用植物内生菌的分离及抗菌活性的初步研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2008, 30(1): 61-64.
- [4] 梁子宁,朱华,赖开平,等. 药用植物鸦胆子内生真菌及其抑菌活性初步研究[J]. 中药材, 2014, 37(4): 564-568.
- [5] 张伟,贾倩,王丽,等. 3种沙生药用植物内生真菌的分离鉴定及其拮抗菌株筛选[J]. 农业科学研究, 2012, 3: 35-40.
- [6] 丁海娥. 五种药用植物内生真菌的分离纯化及其次生代谢产物生物活性研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2014: 1-14.
- [7] 张雷鸣,任伟超,刘秀波,等. 药用植物人参内生菌研究[J]. 西部中医药, 2014, 5: 192-131.
- [8] 郑有坤,刘凯,熊子君,等. 药用植物内生放线菌多样性及天然活性物质研究进展[J]. 中草药, 2014, 44: 2089-2099.
- [9] 常燕,曹军,王兆慧,等. 夹竹桃内生菌杀中活性研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(1): 202-203.
- [10] 张华娇. 具杀虫活性雷公藤内生菌的分离与筛选[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012: 6-41.
- [11] 姚领爱,胡之璧,王莉莉,等. 植物内生菌与宿主关系研究进展[J]. 生态环境学报, 2010, 19(7): 1750-1754.
- [12] 许亚军. 植物内生菌资源多样性研究进展[J]. 广东农业科学, 2011, 24: 149-152.
- [13] 华永丽,欧阳少林,陈美兰,等. 药用植物内生真菌研究进展[J]. 中医药现代, 2008, 10(4): 105-111.
- [14] 江曙,钱大伟,段金殿,等. 植物内生菌与道地药材的相关性研究[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1268-1272.
- [15] 杨波,陈晏,李霞,等. 植物内生菌促进宿主氮吸收与代谢研究进展[J]. 生态学报, 2013, 9: 2656-2664.
- [16] Rashid S, Charles TC, Glick BR. Isolation and characterization of new plant-growth promoting bacterial endophytes[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 61: 217-224.
- [17] Niu DD, Wang CJ, Guo YH, et al. The plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 induces resistance in tomato with induction and priming of defence response[J]. Biocontrol Science and Technology, 2012(9): 991-1004.
- [18] Faria DC, Dias AC, Melo IS, et al. Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential to promote plant growth[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 29(2): 217-221.
- [19] 傅晓方,韩红江,郝勇锋,等. 玉米内生固氮菌的分离鉴定及对小麦幼苗的促生效应[J]. 西北农业学报, 2012, 21(1): 66-71.
- [20] 李娇,张宝,龙赵颖,等. 内生菌对提高植物抗盐碱性的研究进展[J]. 生物技术通报, 2014(4): 14-18.
- [21] 杜永吉,王琪,韩烈保,等. 内生真菌 *Neotephodinium typhinum* 感染对高羊茅光合特征的影响[J]. 生态环境学报, 2009, 18(2): 590-594.
- [22] 邢来君,李明春,魏东胜. 普通真菌学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010: 1-429.
- [23] 徐锦堂. 中国药用真菌学[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学, 1997: 1-863.
- [24] 杜素娟,郭晓恒. 植物内生真菌对植物次生代谢产物的影

- 响[J]. 现代农业科学, 2009, 16(5): 17-18.
- [25] 张薇. 人参根际土壤真菌与内生真菌的多样性及人参皂苷生物催化活性菌株的筛选[D]. 大连: 辽宁师范学院, 2011: 3-74.
- [26] 易婷, 缪煜轩, 冯永君. 内生菌与植物的相互作用: 促进与生物薄膜的形成[J]. 微生物学报, 2008, 35(11): 1774-1780.
- [27] 柳玲玲, 秦松, 朱国胜, 等. 猪苓与蜜环菌共生体系的研究进展[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(4): 655-659.
- [28] 张彩霞, 李壮, 陈莹, 等. 植物与病原菌互作的蛋白质组学研究进展[J]. 西北植物学报, 2010, 30(3): 626-632.
- [29] 薄采颖, 许小芬, 郑光耀, 等. 马尾松针叶二萜酸对植物病原菌抑制作用的研究[J]. 林产化学与工业, 2011, 31(1): 73-76.
- [30] 盖雪鸽, 邢晓科, 郭顺星. 兰科菌根的生态学研究进展[J]. 菌物报, 2014, 33(4): 753-767.
- [31] 王斐, 琚淑明. 松科树种菌根的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(10): 92-95.
- [32] 王梅霞, 张丽, 陈双林, 等. 杜仲内生真菌类群与分布的初步研究[J]. 菌物研究, 2006, 4(3): 55-58.
- [33] 冀玉良, 李丹青, 李堆淑, 等. 连翘内生菌的分离及对植物病原菌的抑制活性测定[J]. 西南农业学报, 2011, 24(6): 2258-2262.
- [34] 刘金花, 吴玲芳, 章华伟. 黄花蒿内生菌的分离与初步鉴定[J]. 氨基酸和生物资源, 2011, 33(4): 27-30.
- [35] 邱小燕, 汤智鹏, 张敏, 等. 一种适用于多数植物病原真菌的单孢分离方法[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(9): 5263-5264.
- [36] 陈萌, 李小林, 李强, 等. 川楝内生放线菌的分离及多样性研究[J]. 微生物学通报, 2015, 42(2): 264-271.
- [37] 王刚, 王俊芳, 刘凤英, 等. 小麦内生细菌分离培养基的选择[J]. 河南农业科学, 2007, 5: 63-66.
- [38] 王玉琴, 薛莉, 杨成德, 等. 高寒草地针茅内生菌 265ZY3 的生物学特性研究及其鉴定[J]. 草地学报, 2014, 22(4): 821-826.
- [39] 王安然. 多穗金粟兰内生真菌分离、鉴定及其次生代谢产物的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2014: 6-41, 21-27.
- [40] 杨春雪, 李丽丽. 丛枝菌根真菌鉴定方法的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2014, 42(7): 93-97.
- [41] 范丽霞, 郑继平. 植物内生菌抗肿瘤活性产物研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(8): 4547-4550.
- [42] 史凤玉, 武云鹏, 张瑞敬, 等. 野生大豆内生细菌多样性及其杀线虫活性分析[J]. 植物保护学报, 2013, 40(4): 327-332.
- [43] 张小君. 植物内生菌来源的天然产物体外抗肿瘤活性研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2014: 1-37.
- [44] 马养民, 冯成亮. 植物内生真菌抗肿瘤活性成分研究进展[J]. 有机化学, 2008, 28(10): 1697-1706.
- [45] 陶玲, 旭格拉·哈布丁, 韩宁宁, 等. 红树林植物内生放线菌 107A-01824 发酵液中杀线虫活性成分的分离、纯化与鉴定[J]. 中国医药生物技术, 2012, 7(1): 5-8.
- [46] 李丽. 核桃内生真菌的分离、鉴定及其代谢产物抑菌活性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013: 5-51.
- [47] 邓雪萍, 杨博. 药用植物内生菌及其产生的活性成分研究现状[J]. 安徽农学报, 2010, 1: 72-74.
- [48] 陈道金, 刘慧敏, 杨静, 等. 植物内生菌活性成分研究进展[J]. 时珍国医国药, 2013(7): 1730-1732.
- [49] 王志伟, 陈永敢, 王庆臻, 等. 中国植物内生微生物研究的发展和展望[J]. 微生物学通报, 2014(3): 482-496.
- [50] 张连茹, 杨梅, 于森, 等. 海胆卵内生菌分离及其生物活性的初步探讨[J]. 厦门大学学报, 2008, 47(5): 728-732.

(责任编辑 狄艳红)