

植物内生真菌——一类应用前景广阔的资源微生物*

任安芝 高玉葆

(南开大学生命科学学院 天津 300071)

摘要: 从内生真菌的基本生物学特征出发, 着重对近年来关于植物内生真菌的生物学作用方面的研究情况进行了综述, 主要包括内生真菌对植物生长发育及其抗逆性的促进作用、内生真菌与生物防治、内生真菌与抗癌药物的开发等。最后还对内生真菌在实际应用中存在的问题和可能采取的措施进行了总结。

关键词: 内生真菌, 宿主植物, 生物胁迫, 生物农药

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2001) 06-0090-04

内生真菌 (endophyte) 是存在于健康植物的茎叶中, 形成不明显侵染的一类真菌。植物与内生真菌的关系是互惠共生的, 表现在一方面植物为内生真菌提供光合产物和矿物质; 另一方面内生真菌的代谢物能刺激植物的生长发育, 提高宿主植物对生物胁迫和非生物胁迫的抵抗能力。有关植物内生真菌的研究起始于 19 世纪末, 但直至 1977 年 Bacon 等发现了高羊茅内生真菌与牛的中毒症状相关后, 内生真菌的生物学作用方面的研究才正式开展起来。

1 内生真菌的种类及其基本特征

大多数内生真菌都属于子囊菌类 (Ascomycetes), 包括核菌纲 (Pyrenomyces)、盘菌纲 (Discomycetes) 和腔菌纲 (Loculoascomycetes) 的许多种类以及它们的一些衍生菌。内生真菌的宿主植物涉及藻类、针叶树、灌木和草本等多个类群, 但不本科植物尤为常见, 现已在 80 多个属的几百种禾本科植物中发现有与之共生的内生真菌。

内生真菌分布于叶鞘、种子、花、茎、叶片和根等的细胞间, 其中叶鞘和种子中菌丝含量最多, 而叶片和根中含量极微。内生真菌主要通过两种形式传播: 一种是不产生孢子, 而是在植物开花期间, 通过菌丝生长进入植物的胚株, 经宿主的种子传播, 内生真菌通过这种无性方式由植物的母代传到子代, 并不发生植物间的交叉感染; 另一种是产生孢子, 通过风、降水等途径传播。

2 内生真菌的生物学作用

内生真菌分布于植物组织内, 可获得足够的碳源、氮源, 而且受到植物组织的良好保护, 因而比暴露于恶劣环境的附生菌和腐生菌具有更稳定的生存环境, 更易于发挥作用^[1]。

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39870142)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 39870142)

国家重点基础研究发展规划项目 (G2000018601)

教育部高校骨干教师资助计划项目 (A94103)

收稿日期: 2000-07-06, 修回日期: 2000-09-30

2.1 促进宿主植物的生长发育 内生真菌对宿主植物的促进作用表现在种子发芽、幼苗存活、分蘖生长、花序、生物量等多个方面。Clay 发现, 内生真菌感染的黑麦草和高羊茅种子, 其发芽率均比相应未感染种子高 10% 左右, 且感染和未感染的高羊茅种子中, 饱满种子所占比率分别为 44% 和 19%; 其后 Clay 又对美国 Louisiana 中部的高羊茅草场进行了 3 年的观察, 结果表明感染植株的存活率比未感染植株高 50%, 且产生的分蘖、花序和生物量分别比未感染植株高 50%、40% 和 70%。

2.2 增强宿主植物的抗逆性 内生真菌对植物抗逆性的增益作用既表现在非生物胁迫(如抗高温、抗干旱等)方面也表现在生物胁迫(如抑制昆虫和食草动物的采食、抵抗病虫害等)方面。

Read 和 Camp 通过 3 年的放牧实验观察到受内生真菌感染的高羊茅的产草量比未受感染的高, 尤其是在夏季干旱高温时期, 未受感染的高羊茅产量减少 54%, 而受感染的仅减少 4%。Mark 和 Clay 进一步对高羊茅的光合特性进行了研究, 发现当叶温超过 35℃ 时, 感染植株的光合速率比未感染植株高 20% ~ 25%^[2]。

感染植物的内生真菌能产生多种生物碱和真菌毒素如黑麦草碱、麦角碱、波胺和覃青毒素等, 这些次生代谢物因对食草动物和昆虫等具有毒性或能降低宿主植物的适口性, 从而能提高植物对多种食草昆虫的抗性^[3-7]。Prestidge 等观察到内生真菌感染的多年生黑麦草可以抵抗阿根廷茎象鼻虫 (*Listronotus bonariensis* Kuschel) 的侵袭。Cheplick 和 Clay 用黑麦草和高羊茅感染植株叶片饲喂秋粘虫 (*Spodoptera frugiperda*) 幼虫, 发现其存活率和生长速率明显降低, 且发育延迟。此外, 内生真菌也能增强植物对一些病原真菌和腐生真菌的抗性。

2.3 内生真菌与生物防治 植物内生真菌的专一性很强, 除了对其宿主植物及取食或感染宿主植物的生物起作用外, 对其它生物没有直接影响, 而且内生真菌可通过人工接种被导入不同的植物并可通过宿主的种子进行遗传, 因而具有作为生物农药的优良特性。但到目前为止, 关于内生真菌的研究多集中在分离、鉴定、人工接种及提高植物抗性等方面, 而将内生真菌有目的地用于生物防治的报道还不多。获得内生真菌生物农药的主要方法有: (1) 从已经存在的被内生真菌感染的宿主植物中选择所需要的植物材料。自然界中广泛分布着内生真菌的野生种群, 据报道大洋州的黑麦草和美国的高羊茅内生真菌的感染率高达 90% 以上, 法国 70% 的黑麦草野生种群也含有内生真菌^[8]。(2) 根据内生真菌通过宿主种子遗传的特性培育所需的品种。植物的大多数形态和生理特征都是由核基因编码的, 将感染内生真菌的植物品种与不感染内生真菌但具有其它优良性状的品种进行杂交, 然后选择被感染后代再与不感染亲本回交, 经过 5 代回交后, 未感染亲本的 90% 的核基因都传给了其被感染后代, 这样即可获得同时具备两个亲本优良特性的新品种。(3) 通过人工接种直接将外源内生真菌导入未感染植株, 这是最直接也是最具发展前途的方法。一般是将未感染种子在无菌条件下培养至幼苗或通过茎段诱导出愈伤组织, 然后将外源真菌的菌丝或分生孢子插入幼苗分生组织的上方或愈伤组织中。该方法所需时间短, 见效快, 但由于内生真菌对宿主的专一性较强, 所以应用该方法时要考虑内生真菌与植物是否相容。

另外, 内生真菌也可作为外源基因导入宿主的载体。自从 Kostka 成功地将 Bt 基因构建于内生细菌木质棍状杆菌犬齿亚种中进行玉米螟害虫生物防治以来, 许多研究者

认为植物内生真菌也可能是一个很好的外源基因载体。

2.4 内生真菌与抗癌药物开发 紫杉醇是近年来发现的重要抗肿瘤药物之一, 随着紫杉醇的需求量日益增大, 多方寻找紫杉醇的来源已是当务之急。现已发现红豆杉 (*Taxus*) 属植物中许多种如短叶红豆杉 (*Taxus brevifolia*)、云南红豆杉 (*Taxus yunnanensis*)、西藏红豆杉 (*Taxus wallachiana*)、南方红豆杉 (*Taxus mairei*) 等植物内生真菌都能产紫杉醇^[9]。Strobel 等在欧洲紫杉 (*Taxus baccata*) 的内生真菌中还提取到一种白灰制菌素 A (leucinostatin A), 这种物质除了具有杀真菌的活性外, 对人体的某些癌细胞也有很强的抑制作用, 具有很高的开发利用价值^[10]。

3 存在的问题

由于内生真菌对其宿主植物在生长发育和抵抗外界胁迫方面的增益作用, 其应用受到越来越多研究者的关注。然而, 在全面应用内生真菌的优良特性以前, 还必须考虑到可能存在的如下几个问题。(1) 到目前为止, 最为人们所关注的就是内生真菌感染植物的毒性问题。研究表明, 许多被感染植物在对食草昆虫产生毒害的同时, 对牛、羊等家畜也有毒害作用。(2) 内生真菌对其宿主植物竞争能力的增强会导致群落多样性的降低^[11], 长期下去, 宿主植物本身有可能因过度发展而成为一种灾害。当宿主植物不为人们所需要的杂草时情况更为严重。(3) 内生真菌导入植物后引起昆虫的拒食性, 昆虫便会从采食这种植物转移至另一种植物, 而没有内生真菌保护的未感染植物将要面临新的采食和危害的压力, 这样虫害问题只是简单的转移而并没有得到控制。(4) 感染内生真菌的种子在通常温度和湿度条件下贮存极易造成内生真菌的失活, 因而感染种子一般都存放在低温 (4℃) 干燥处, 这样会对内生真菌感染品种的推广和普及带来一些问题。

4 可能采取的措施

植物与内生真菌可以构成互惠共生体, 但内生真菌的存在会对放牧家畜产生毒害作用, 所以要想充分利用内生真菌的优良特性同时避开其不良影响, 就可从食草动物、内生真菌和宿主植物这三方面入手。

就食草动物方面而言, 可能采取的措施有: (1) 培育耐性品种。(2) 改变反刍动物瘤胃的微环境, 使其具有生物碱解毒能力, 这种方法已在其它研究中有成功的先例。Hammond 等发现, 当地的反刍动物对其食物——一种豆科植物 *Leucaena* 中的有毒物质含羞草氨酸并不敏感, 而外来反刍动物则出现明显的中毒症状, 当把当地动物瘤胃中具解毒作用的细菌转移到敏感动物时, 中毒症状明显减轻。实际上, 自然界可能已经存在对内生真菌产生的生物碱具解毒能力的瘤胃, 只是我们目前还没发现而已。更具发展潜力的手段是识别负责生物碱解毒的 DNA 序列, 然后将该序列转入反刍动物瘤胃中的微生物体内, 而使得生物碱解毒性能得以遗传。(3) 通过抗体使动物产生免疫。Dougherty 等报道在动物的食物中添加维生素 B₁ 就能显著降低高羊茅的毒性。

从内生真菌方面考虑, 主要是筛选理想的内生真菌菌株。据报道引起家畜中毒的生物碱主要是麦角碱和黑麦草碱, 而对昆虫产生毒性的生物碱为波胺等, 这样就可能获得只对昆虫等产生毒性而对家畜安全的理想菌株。采取的措施主要有两个: (1) 是直接来自自然菌种中筛选; (2) 是通过基因工程手段构建新菌株, 其中既包括去处使动

物产生毒性的基因片段也包括导入提高宿主抗性的基因片段。植物内生真菌广泛的遗传多样性使第一种方法成为可能,现在已经筛选出一些符合条件的理想菌株,并能在子代中稳定遗传^[12]。

对于宿主植物来说,可能采取的措施主要有 2: (1) 是通过基因工程方法调节植物的生物碱合成能力, (2) 是培育具多种抗性但不含内生真菌的植物抗性品种。实际上,去除内生真菌后从对家畜产生的正效应中获得的效益远小于因高温、干旱、虫害、病害等造成的损失,因而去除植物内生真菌并不是明智之举。

5 结束语

综上所述,植物内生真菌是一类应用前景广阔的资源微生物。就目前来看,虽然内生真菌对家畜的毒性问题还没有完全解决,使其在粮食作物生产和牧草栽培中的应用受到一定限制,但对于城市草坪来说,内生真菌的这些特性恰好是人们所期望的。据估计仅 1990 年,全世界就有 6000 吨内生真菌感染的黑麦草种子得到利用。植物内生真菌是一个庞大的类群,而我们现在知道的只是其中一小部分。据估计,至少还有 130 多万种有待于我们去发现^[13],更多的优良特性等待我们去探索。

参 考 文 献

- [1] 杨海莲, 孙晓璐, 宋 末. 微生物学通报, 1998, **25** (4): 224 ~ 227.
- [2] Marks S, Clay K. New Phytol, 1996, **133**: 727 ~ 733.
- [3] Spiers D E, Zhang Q, Eichen P A, et al. J Anim Sci, 1995, **73**: 1954 ~ 1961.
- [4] Porter J K. J Anim Sci, 1995, **73**: 871 ~ 880.
- [5] Ball O J-P, Prestidge R A, Sprosen J M. Applied and Environmental Microbiology, 1995, **61**: 1527 ~ 1533.
- [6] Ball O J-P, Barker G M, Prestidge R A, et al. Journal of Chemical Ecology, 1997, **23**: 1420 ~ 1449.
- [7] Miles C O, Menna M E, Jacobs S W L, et al. Applied and Environmental Microbiology, 1998, **64**: 601 ~ 606.
- [8] Ravel C, Michalakakis Y, Charmet G. Oikos, 1997, **80**: 18 ~ 24.
- [9] 王建锋, 吕华鹰, 苏文金. 微生物学通报, 2000, **27** (1): 58 ~ 60.
- [10] Strobel G A, Torczynski R, Bollon A. Plant Science, 1997, **128**: 97 ~ 108.
- [11] Clay K, Holah J. Ecology, 1999, **285**: 1742-1744.
- [12] Adcock R A, Hill N S, Bouton J H, et al. Journal of Chemical Ecology, 1997, **23**: 691-704.
- [13] Sridhar K R, Raviraja N S. Current Science, 1995, **69** (7): 570 ~ 571.