

植物内生真菌在植物病害生物防治中的作用

杨玉锋, 李保利

(安阳工学院, 河南 安阳 455000)

摘要: 植物内生真菌具有普遍存在性和生物多样性, 许多种类在植物体内作为生防菌, 能有效地防治植物病害, 增强植物对病原菌的抗性。鉴此, 综述了植物内生真菌在植物病害生物防治中的作用, 从其分泌抗菌物质、与病菌竞争生态位和营养物质、诱导系统抗性、产生植物激素等方面分析植物内生真菌的生防机制, 并对其作为植物病害生防因子进行开发与应用中存在的问题进行了讨论。

关键词: 植物内生真菌; 生物防治; 生防机制

中图分类号: Q948.12⁺2.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)03-0025-04

The Roles of Endophytic Fungi in Biological Control of Plant Diseases

YANG Yu-feng, LI Bao-li

(Anyang Institute of Technology, Anyang 455000, China)

Abstract: Plant endophytic fungi are of universal existence with biodiversity. Some of those species are used as biocontrol agents and effectively control plant diseases and enhance resistance of plants to pathogens. The roles of endophytic fungi in biological control of plant diseases are reviewed. The biocontrol mechanisms include their secretion of antimicrobial substances, competition of niche and nutrients with bacteria, induction of systemic resistance, production of plant hormones, etc. In addition, several problems in research and application of plant endophytic fungi as biocontrol agents are discussed.

Key words: Plant endophytic fungus; Biological control; Biocontrol mechanism

植物内生真菌普遍存在于植物的地上和地下部分, 且只存在植物组织—真菌的互作界面。侵染根系的内生真菌不形成明显的结构特征, 此区别于菌根真菌, 后者在植物根部组织中形成特定的功能性结构。内生真菌是一大类未被充分认识的真菌, 在整个真菌学发展史上, 内生真菌的研究历史并不长。1924年, Lewis首次报道禾本科植物叶片中存在内生真菌, 但此后的研究工作很少。1993年, 美国科学家 Stierle等^[1]从短叶红豆杉(*Taxus brevifolia*)的韧皮部分离到1株产紫杉醇的内生真菌安德氏紫杉霉(*Taxomyces andreanae*), 从此掀起了人们对植物内生真菌及其活性物质开发的热潮。植物内生真菌是植物微生态系统中的重要组成成分。它可以

直接面对病菌的侵染, 对病菌的致病因子或病菌本身发起攻击, 降解病菌致病因子或菌丝, 产生拮抗物质, 或诱导植物产生系统抗性抑制病原物, 而植物本身的基因并未发生改变, 仍然可以保持天然性状。另外, 植物内生真菌对寄主植物有促生作用。因此, 植物内生真菌是植物病害生物防治的天然资源菌, 具有广大的理论研究价值和开发应用前景。鉴此, 综述了植物内生真菌对植物病害的生物防治作用, 从其分泌抗菌物质、植物内生真菌与病菌竞争生态位和营养物质、诱导系统抗性、产生植物激素等方面分析植物内生真菌的生防机制, 并对其作为植物病害生防因子进行开发与应用中存在的问题进行了讨论。

收稿日期: 2010-10-19

作者简介: 杨玉锋(1978-), 男, 河南安阳人, 讲师, 在读硕士研究生, 主要从事植物病理学的教学与研究工作。

E-mail: 844072875@qq.com

1 植物内生真菌具有普遍存在性和生物多样性

植物内生真菌普遍存在于目前已研究过的各种陆生及水生植物中,从低等的藻类植物、苔藓植物、蕨类植物到高等的裸子植物、被子植物的多种植物组织中,遍及整个植物界。自最早从禾本科植物牧草中发现内生真菌以来,20 世纪 70 年代后期,在一些重要的经济林木如针叶类的冷杉、云杉、红杉、紫杉、松柏等,以及阔叶类的栎树、桦树、桉木、桉树等植物树皮、枝叶内相继发现内生真菌,并进行了广泛的研究,进而在多种灌木、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菌。

植物内生真菌具有丰富的生物多样性。近 10a 多来,人们从 55 科 108 属 153 种和 3 变种植物以及一种海洋植物藻类中分离到的内生真菌达到 171 属,涉及到子囊菌、担子菌、接合菌、卵菌、有丝分裂孢子真菌等真菌类群,其中子囊菌 40 属、担子菌 3 属、接合菌 3 属、卵菌 3 属;其余 122 属为有丝分裂孢子真菌,包括丝孢菌 82 属、腔孢菌 32 属和其他类群 8 属,具有丰富的物种多样性^[2]。内生真菌的生物多样性和普遍存在性为其研究提供了最基本的保证。

2 植物内生真菌对植物病害的生物防治作用

许多植物体内都存在着特殊的内生真菌,它们在植物体内作为生防菌,能有效地防治植物病害,增强植物对病原菌的抗性。近几年,人们在植物内生真菌防治植物病害方面进行了大量的研究。

李雅等^[3]以苹果腐烂病菌(*Cytospora* sp.)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、西瓜枯萎病(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucum erinum*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)和白菜黑斑病菌(*Alternaria brassicae*)为供试菌种,对杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)的 49 株内生真菌及其次生代谢物进行了抑菌活性测定。结果表明,有 9 株内生真菌对 6 种测试菌都有抑制作用,4 株内生菌的次生代谢产物对 6 种测试菌都有抑制作用。

易晓华等^[4]从除虫菊(*Pyrethrum cinerarii* folium Trev.)中分离到镰孢属内生真菌(*Fusarium* sp.)Y2 菌株,其发酵液的 10 倍稀释液对玉米大斑病菌等 6 种供试植物病原真菌菌丝生长的抑制率介

于 80.41%~93.26%,5 倍稀释液对番茄灰霉病菌和苹果炭疽病菌(*Glomerella cingulata*)孢子萌发的抑制率均大于 80%。

李会玲等^[5]从冬青卫矛(*Euonymus japonicus*)根皮中分离到 1 株内生真菌,初步鉴定其属于半知菌亚门,曲霉属(*Aspergillus*)。室内活性测定结果表明,该菌株发酵液的杀菌活性远高于菌丝体的杀菌活性。其发酵液乙酸乙酯萃取物对小麦根腐病菌(*Bipolaris sorokiniana*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、苹果炭疽病菌、玉米大斑病菌、番茄叶霉病菌(*Fulvia fulvum*)、烟草赤星病菌(*Alternaria longipes*)和马铃薯干腐病菌(*Fusarium solani*)菌丝生长抑制的 EC₅₀ 值分别为 53.6、63.1、63.3、98.2、106.5、115.9、166.3 mg/L;对玉米大斑病菌、小麦根腐病菌、烟草赤星病菌和马铃薯干腐病菌孢子萌发抑制的 EC₅₀ 值分别为 94.8、139.1、146.6、180.1 mg/L。

杨润亚等^[6]从连翘(*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl)茎、叶中分离到的 19 株内生真菌中,有 13 株的发酵产物(发酵液或菌丝体粗提物)对供试植物病原真菌均有大于 50%的抑菌活性。其中,抑菌活性最强的发酵处理液抑菌率可达 70.27%,菌丝体粗提物抑菌率高达 84.42%,表明连翘内存在着广泛的抗植物病原真菌的微生物资源。连翘内生真菌中的抑菌活性成分主要为细胞内代谢产物(存在于菌丝体粗提物中),其抑菌活性主要表现在对小麦赤霉病菌、苹果褐腐病菌(*Sclerotinia fructigena*)、苹果轮纹病菌(*Physalospora piricola*)及棉花立枯病菌(*Rhizoctonia solani*)4 种植物病原菌上。

江曙等^[7]从药用植物海金沙(*Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.)中筛选抗小麦赤霉病菌、番茄早疫霉菌(*Alternaria solani*)、番茄灰霉病菌等植物病原真菌的内生真菌,并进行活性物质检测。结果表明,抗作物病原真菌的内生真菌种类及其次生代谢产物都具有广泛的生物多样性。80%以上的内生真菌对这 3 种农作物病原真菌具有较强的抗菌活性,其中 116①号菌株对小麦赤霉病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制率为 99.7%、65.8%;327 号菌株对番茄早疫霉菌菌丝生长和孢子萌发的抑制率为 90.3%、55.9%;115①号菌株对番茄灰霉病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制率为 99.1%、63.1%。

关于植物内生真菌产生抗线虫物质及其在作物线虫防治上的报道较少。从番茄根中分离到 1 株尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*),该内生真菌提取物除了对一些病原真菌有抑制活性外,还能够抑制南方根

结线虫(*MeIoidogyne incognita*)。Dababat 等^[8]将内生尖孢镰刀菌接种到番茄后,发现其能明显减少南方根结线虫的根结数,线虫的数量与对照相比减少 36.0%~55.9%。从健康的香蕉中也分离到 1 株不致病的内生尖孢镰刀菌,其能抑制香蕉穿孔线虫(*Radopholus similis*)的生殖力,从而起到防治线虫的作用^[9]。

3 植物内生真菌的防病机制

3.1 产生抗菌活性物质

植物内生真菌产生的生理活性物质中具有抗菌作用的主要是生物碱类、肽类、甾体类、萜类、酚类、醌类、脂肪族类、异香豆素类等多种类型的抗菌活性物质。

Strobel 等^[10]从雷公藤(*Tripterygium wilfordii*)的茎中分离到内生真菌栎树拟隐孢壳(*Cryptosporiopsis quewina*),其产生的一种物质环肽(cryptocandin)对核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)和灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)等植物病原真菌有抑制作用。Shu 等^[11]从栓皮栎(*Quercus variabilis*)内生镰刀菌(*Fusarium* sp.)中分离到 2 种具有抗细菌活性和黄嘌呤氧化酶抑制活性的脑苷脂类化合物。

Lu 等^[12]从黄花蒿(*Artemisia annua*)的内生真菌(*Colletotrichum* sp.)中分离到一种新的吡啶类生物碱 6-异戊烯基吡啶-3-羧酸,将其配制成质量浓度为 200 mg/L 的带毒培养基,对一些植物病原真菌进行培养,发现其对辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)、小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)、禾谷丝核菌(*Rhizoctonia cerealis*)和禾顶囊壳小麦变种(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*)有明显的抑制活性。另外,还分离到 5 种具抗菌活性的甾体类化合物,它们均具有麦角甾醇的基本骨架,能抑制多种植物病原真菌和细菌。

从茎点霉(*Phoma* sp.)中分离到的 2-羟基-6-甲基苯甲酸具有很强的抗细菌活性,由无柄盘菌(*Pezizula* sp.)产生的 2-甲氧基-4-羟基-6-甲氧基苯甲酸对植物病原真菌瓜枝孢(*Cladosporium cucumerinum*)具有明显的抑制活性,从梯牧草(*Phleum pratense*)内生柱孢菌(*Epichloa tritricina*)中分离到 5 种具抗真菌活性的酚酸类化合物:对羟基苯甲酸、对羟基苯乙酸、对羟基苯乙醇、顺式-对香豆酸、反式-对香豆酸^[13]。

3.2 与病菌竞争生态位和营养物质

植物内生真菌进入寄主植物的途径和方式与病原菌基本相似。这些内生真菌进入植物体,可以优

先占据病原菌的入侵位点,与病原菌竞争营养物质,并可在入侵部位分泌产生抗菌物质,从而抑制病原菌侵染植物或阻止病原菌在植物体内扩展危害^[14]。如从健康的甘薯植株内分离的尖孢镰刀菌接种甘薯苗后可控制萎蔫镰刀菌的侵染;从西瓜等葫芦科植物微管束中分离的尖孢镰刀菌也可抵御萎蔫镰刀菌所致病害;从棉株上分离的一种内生真菌(*Chaetomium* sp.),经茎基部注射后具有抑制萎蔫镰刀菌扩展的作用^[15]。

3.3 诱导系统抗性(ISR)

植物体对病原物的抗性有 2 种不同的机制,即系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)和诱导型系统抗病性(induced systemic resistance, ISR)。SAR 反应主要受到病原菌、生防真菌或一些化合物诱导产生,显著特征是水杨酸、茉莉酸和乙烯等物质参与,并伴有病程相关蛋白(pathogenesis-related proteins, PR)如几丁质酶、葡聚糖酶和多酚氧化酶等的积累,而 ISR 反应并没有 PR 蛋白的积累^[15]。早先人们对于植物根圈促生细菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)引起植物产生诱导型系统抗病性已有深入的认识。近期的研究表明,植物内生真菌也能诱导植物体产生相似的抗性反应,如菌丝分泌的某些小分子蛋白或代谢产物能够作为诱导子引发植物抗性,植物组织内的谷胱甘肽-抗坏血酸代谢途径(glutathione-ascorbate pathway)被激活,从而增强了细胞抗氧化能力^[16]。

3.4 促进植物生长

植物内生真菌对农作物的营养生长具有一定的促进作用,从而提高植物对病原物的防御能力。感染内生真菌的高羊茅(*Festuca arundinacea*)植株经过 10 周生长后,分蘖数和生物量明显高于未感染植株。内生真菌促进植物生长的生理生化机制主要包括:①影响受感染植物体内的物质代谢,提高植物的资源利用效率。内生真菌对感染植株的氮代谢和氮积累有显著的影响,感染植株叶片和叶鞘中的可溶性氨基酸总量、氮含量增加,谷氨酰胺合成酶(GS)活性显著提高,植物对土壤氮的利用效率大大增加。另外,内生真菌能够改变植物体中碳水化合物源库关系。内生真菌作为碳水化合物的一个储库,能迅速地将蔗糖转变成植物不能代谢的糖醇,从而减少或阻止对光合作用的反馈抑制,促进植物的光合作用。②产生生长素等激素类物质,促进植物的生长。张集慧等^[17]从金线莲(*Anoectochilus roxburghii*)等药用植物中分离的 5 株内生真菌,均能不同程度地产生一种或几种植物激素,从其发酵液

和菌丝体中可以提取到赤霉素(GA_3)、吲哚乙酸(IAA)、脱落酸(ABA)、玉米素(Z)、玉米素核苷(ZR)等 5 种植物激素。

4 植物内生真菌防治病害的研究和应用中存在的问题与展望

植物内生真菌产生作用所需的时间较长,与化学农药相比一时难以起效。目前,对植物内生真菌的研究报道仅限于分离、纯化、种类鉴定、离体防效及室内防效测定等方面。因田间防效受到多种复杂因素的影响,离体防效和室内防效的结果一般不能反映田间防治效果。植物本身就是一种复杂的微生态系统,内生真菌作为此系统中的一员,也处于复杂的环境中,并且不同植物和不同组织中内生真菌的种类和数量也不相同,因此植物内生真菌在植物病害防治中有许多制约因素,除内生真菌的生防机制和转运之外,内生真菌在植物体内的数量也是制约因素之一^[18]。植物的栽培条件、栽培措施、自然环境、微生态环境、真菌的形态稳定性等都影响内生真菌发挥作用,因此,利用内生真菌作为生防因子进行大田防治,必须考虑它的生态、病理、形态学等的影响。

植物内生真菌尚未广泛地应用于植物病害防治中,关于其应用需加强以下几方面工作:(1)从植物内生真菌中寻找一些结构新颖和具有抗菌活性的次生代谢产物作为活性先导化合物,为研制新型的杀菌剂、杀线虫剂提供依据;(2)从植物内生真菌代谢物中直接筛选杀菌剂、杀线虫剂应用于植物病害防治;(3)将分离的植物内生真菌接种到农作物上,研究其对农作物和病原菌的影响及机制;(4)从植物内生真菌中筛选有价值的生防菌,进行生物防治,从而达到治理植物病害的目的。

参考文献:

- [1] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of *Pacific yew* [J]. *Science*, 1993, 260: 214-216.
- [2] 易晓华, 孙之潭, 胡美英, 等. 内生真菌的研究进展[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2005, 18(10): 61-65.
- [3] 李雅, 宋晓斌, 马养民, 等. 杜仲内生真菌对植物病原真菌的抑菌活性研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(2): 69-73.
- [4] 易晓华, 冯俊涛, 王永宏, 等. 除虫菊内生真菌 Y2 菌株的分离鉴定及其发酵产物抑菌活性初步研究[J]. 农药学报, 2007, 9(2): 193-196.
- [5] 李会玲, 杨春平, 武金占, 等. 冬青卫矛内生真菌 2QR1 菌株代谢产物的杀菌活性[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(6): 135-140.
- [6] 杨润亚, 李艳华, 柳娜娜, 等. 连翘内生真菌的分离及其抑菌活性初步研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(15): 4561-4563.
- [7] 江曙, 陈代杰, 戈梅, 等. 药用植物内生真菌对 3 种农作物病原真菌的拮抗作用[J]. 江苏农业科学, 2008(1): 82-84.
- [8] Dababat A A, Sikora R A. Influence of the mutualistic endophyte *Fusarium oxysporum* 162 on *Meloidogyne incognita* attraction and invasion [J]. *Nematology*, 2007, 9: 771-776.
- [9] Athman S Y, Dubois T, Coyne D, et al. Effect of endophytic *Fusarium oxysporum* on root penetration and reproduction of *Radopholus similis* in tissue culture-derived banana (*Musa* spp.) plants [J]. *Nematology*, 2007, 9: 599-607.
- [10] Strobel G A, Torzynski R, Bollon A. *Acremonium* sp. — a leucinostain A producing endophyte of European yew (*Taxus baccata*) [J]. *Plant Sci*, 1997, 128: 97-108.
- [11] Shu R G, Wang F W, Yang Y M, et al. Antibacterial and xanthine oxidase inhibitory cerebroside from *Fusarium* sp. IFB-121, an endophytic fungus in *Quercus variabilis* [J]. *Lipids*, 2004, 39(7): 667-673.
- [12] Lu H, Zou W X, Meng J C, et al. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua* [J]. *Plant Sci*, 2000, 151: 67-73.
- [13] 朱国胜, 黄永会, 刘作易, 等. 中国种子植物内生真菌资源及菌植协同进化[J]. 菌物研究, 2005, 3(2): 6-13.
- [14] 石瑛. 内生真菌对植物生长发育的影响[J]. 现代农业科技, 2010(6): 36-38.
- [15] 何美仙. 植物内生真菌作为生防因子的研究进展[J]. 植物保护, 2005, 31(1): 10-13.
- [16] 袁志林, 章初龙, 林福呈. 植物与内生真菌互作的生理与分子机制研究进展[J]. 生态学报, 2008, 28(9): 4430-4439.
- [17] 张集慧, 王春兰, 郭顺星, 等. 兰科药用植物的 5 种内生真菌产生的植物激素[J]. 中国医学科学院学报, 1999, 21(6): 460-465.
- [18] 谢丽华, 王国红, 杨民和. 内生真菌及其对宿主植物生态适应性的影响[J]. 菌物研究, 2006, 4(3): 98-106.