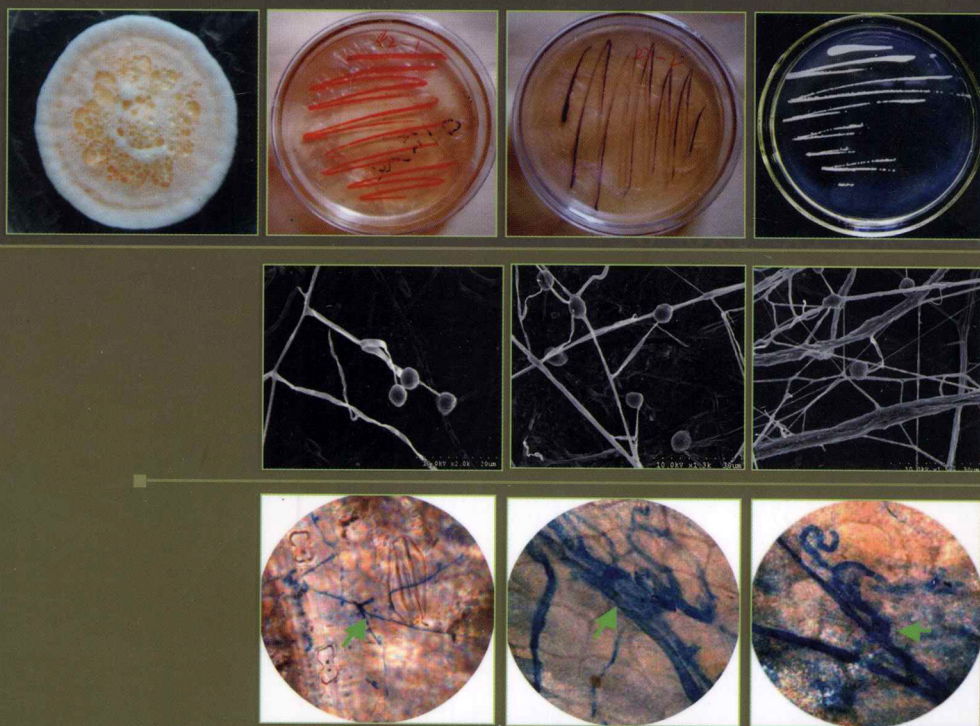


植物内生菌

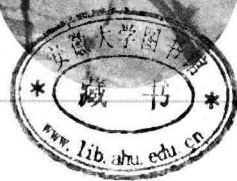
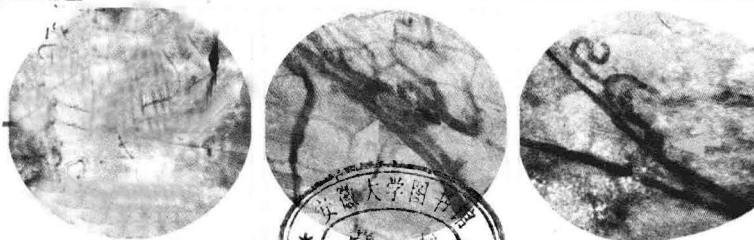
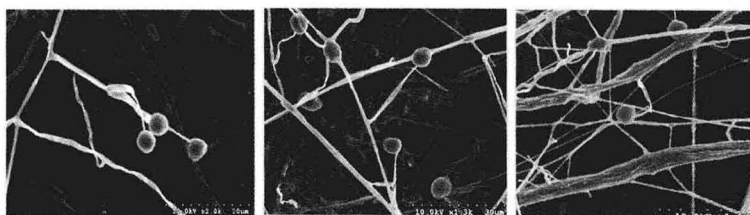
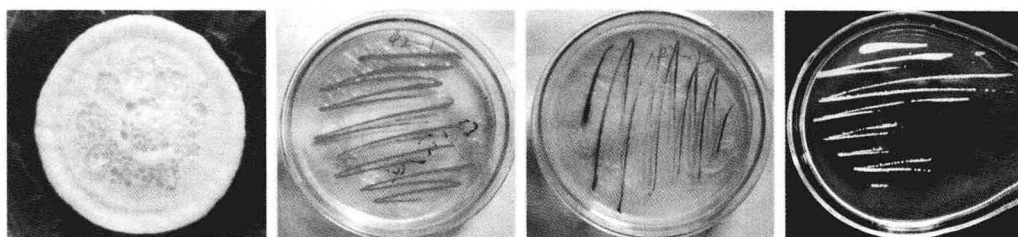
黄贵修 刘先宝 编著



中国农业科学技术出版社

植物内生菌

黄贵修 刘先宝 编著



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

植物内生菌 / 黄贵修, 刘先宝编著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2012. 3

ISBN 978 - 7 - 80233 - 985 - 9

I. ①植… II. ①黄…②刘… III. ①植物 - 共生细菌
IV. ①Q939. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 135362 号

责任编辑 徐 毅 姚 欢

责任校对 贾晓红 范 潇

出 版 者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82106636(编辑室) (010)82109704(发行部)

(010)82109709(读者服务部)

传 真 (010)82106631

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 新华书店北京发行所

印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 787mm × 1 092mm 1/16

印 张 27.5

字 数 620 千字

版 次 2013 年 1 月第 1 版 2013 年 1 月第 1 次印刷

定 价 99.00 元

❖ 版权所有 · 翻印必究 ❖

编 委 会

主 编：黄贵修 刘先宝

副主编：时 涛 林春花 李超萍 蔡吉苗

编 委：（按姓氏笔画为序）

王延丽	王 爽	卢 昕	付业勤	吕恒玉
朱森林	李继锋	李博勋	张科立	陈江莎
陈奕鹏	周 维	高宏华	郭志凯	郭 涵
彭建华	蔡志英	裴月令	樊春俊	潘美心
霍姗姗	戴英葵			

编者语

植物内生菌是一类存在于植物组织中而不引起侵染症状的重要微生物资源。在长期的相互作用过程中，植物与其内生菌已经形成了一个共生单元，成为植物进化过程的重要组成部分。共生关系形成的推动力是其可提高各自的生存、竞争和再生能力。特别是大部分共生生物在进化期间已经形成相互依赖关系，每个组成生物在自然界已经无法独立生存。

早在 1886 年，Bary 就提出了内生菌概念，但由于分布于没有外在感染症状的健康植物组织内，其存在和作用长期以来一直为人们所忽视。近年来，随着内生菌及其代谢产物在农业和医学上利用价值的不断被发现，才逐渐成为微生物资源研究的热点之一。这些内生微生物的存在会影响到寄主植物的生态学，例如，通过利用这些共生生物提高寄主植物的适应性，在使用少量的水、肥和农药的情况下就可进行安全的作物生产，还可能通过所侵染的植物影响到动物和人类。目前，在植物中已经发现多种类型的内生微生物，一个植物的叶片中可能存在具有固氮活性的内生细菌，也可能存在对食草动物具有拒食作用内生真菌，植物根中可能存在许多菌根菌和细菌。一些内生菌还能够与宿主植物产生相同的代谢产物，Strobel 从短叶紫杉 (*Taxus brevifolia*) 分离到一株能产生肿瘤治疗剂紫杉醇的内生真菌，这更激发了人们对植物内生菌资源的挖掘与利用技术研究。

本书编者多年来一直从事植物内生菌的研究工作，将收集的国外参考资料进行了翻译和整理，并与个人研究成果汇编成书。本书分为上、下两篇，上篇内容主要包括内生菌形态学、生理学、生态学、分子遗传学和进化的研究。下篇讲述了内生菌多样性、分离、保存、鉴定、定殖检测和生防作用等一些具体的研究实例。内生菌研究起步较晚，可供参考的研究文献数量有限。通过此书作者希望能够有助于更多的人了解植物内生菌，也希望可以激发相关研究人员展开更深入研究，揭示更多内生菌与宿主植物相互作用中所蕴藏的机制。

苏俊修 刘先宝

2012 年 2 月 19 日

目 录

上 篇

第一章 内生微生物概述	(3)
1 引言	(3)
2 定义	(3)
3 主要的内生微生物种群纲要	(4)
3.1 内生麦角菌科	(4)
3.2 其他系统性内生真菌	(5)
3.3 双子叶植物内生真菌	(5)
3.4 地衣中的内生真菌	(11)
3.5 苔藓类植物和蕨类植物中的内生真菌	(12)
3.6 植物树皮中的内生真菌	(12)
3.7 植物木质部中的内生真菌	(13)
3.8 植物根际的内生真菌	(13)
3.9 菌瘿和孢囊内的内生真菌	(15)
3.10 植物中的内生细菌	(15)
参考文献	(16)
第二章 赖尼硅质岩 (Rhynie Chert) 生态系统——了解真菌互作的模型	(23)
1 引言	(23)
2 赖尼硅质岩真菌	(24)
2.1 腐生菌	(24)
2.2 寄生菌	(26)
2.3 重寄生 (Mycoparasitism)	(26)
2.4 菌根	(28)
2.5 地衣	(30)
3 结论	(30)
参考文献	(32)
第三章 草本植物活体营养的内生真菌：系统评价	(35)
1 引言	(35)

2 分类和进化	(35)
3 属	(36)
4 内生性的发展	(36)
4.1 瘤座菌属	(36)
4.2 香柱菌和 <i>Parepichloe</i>	(37)
5 内生性的优势	(37)
5.1 吸收养分的途径更广	(37)
5.2 防止脱水	(37)
5.3 防止昆虫、寄生真菌和其他微生物的危害	(38)
6 植物子实体的形成	(38)
7 植物组织的修饰	(39)
8 有性生殖	(40)
9 对寄主的有利作用	(41)
10 中毒性综合征	(42)
参考文献	(42)
第四章 草本植物内生菌进化中的杂交和协同物种形成假说	(45)
1 内生菌的多样性	(45)
2 共生体的生活史	(45)
3 宿主专一性	(46)
4 进化上的几点考虑	(49)
4.1 宿主专化性的进化意义	(49)
4.2 有性生殖对共生体的益处	(49)
5 无性繁殖与突变融合	(50)
6 相互依赖	(50)
7 共物种形成	(51)
8 种间杂交	(52)
9 结论	(56)
参考文献	(57)
第五章 栽培和野生植物中内生镰刀菌	(60)
1 引言	(60)
2 镰孢属内生菌的评价方法	(69)
2.1 微生物学方法	(70)
2.2 显微方法	(70)
2.3 遗传学和分子方法	(71)
3 玉米内生串珠镰刀菌	(72)
3.1 串珠镰刀菌内生定殖玉米的微生物学依据	(73)
3.2 串珠镰刀菌内生定殖玉米的显微学依据	(73)
3.3 串珠镰刀菌内生定殖玉米的遗传学和分子依据	(74)

3.4 串珠镰刀菌内生菌侵染的方式	(74)
4 野生植株中的内生镰刀菌	(76)
5 观赏树木和栽培树木中的内生镰刀菌	(76)
6 作物中的内生镰刀菌	(77)
7 总结	(78)
参考文献	(79)
第六章 球囊霉目中丛枝菌根真菌的内生性进化	(87)
1 引言	(87)
2 丛枝菌根共生现象的起源	(87)
3 协同进化和物种形成	(91)
4 协同进化和种群动态学	(93)
5 结论	(96)
参考文献	(96)
第七章 沙漠菌根的生物多样性和进化	(102)
1 引言	(102)
2 丛枝菌根真菌在干旱地区植物中的定殖水平	(102)
3 干旱地区土壤中丛枝菌根真菌的多样性	(104)
4 影响定殖观察差异的潜在因素	(105)
5 干旱地区磷和丛枝菌根真菌的相互作用	(107)
6 氮和氮/磷的协同作用	(108)
7 丛枝菌根真菌对水和渗透压力的影响	(109)
8 丛枝菌根真菌和植物的适应性	(109)
9 结论和方向	(110)
参考文献	(111)
第八章 菌根真菌	(116)
1 引言	(116)
2 菌根的类型	(117)
2.1 内生菌根	(117)
2.2 外生菌根	(117)
2.3 杜鹃花类菌根	(118)
2.4 兰科菌根	(118)
3 Glomalean 菌根真菌的形态学	(119)
3.1 外部菌丝	(119)
3.2 附着胞	(120)
3.3 辅助细胞	(120)
3.4 分生孢子	(120)
3.5 内部菌丝	(121)
3.6 丛枝体	(121)

3.7 囊泡	(121)
4 分类学	(121)
5 菌根真菌的生态学	(125)
5.1 共生的起源	(125)
5.2 内生菌在生态系统中的作用	(125)
5.3 新生境的传播和建立	(127)
5.4 与生物群落的相互作用	(129)
5.5 与动物的相互作用	(130)
5.6 动物也能与菌根真菌和谐作用	(130)
5.7 与植物群落的互作	(131)
6 后续研究的重要性	(132)
参考文献	(133)
第九章 内生细菌及其对植物的影响和在农业生产中的应用	(145)
1 引言	(145)
2 内生细菌作为一类细菌的定义	(145)
3 内生细菌进化发展的推测	(146)
4 被鉴定为内生细菌类型的划分	(149)
4.1 植物病原细菌	(149)
4.2 其他有害的内生细菌	(150)
4.3 非致病性的内生菌	(150)
4.4 固氮细菌	(150)
5 常规的生态学研究	(151)
5.1 植物中内生细菌群体	(151)
5.2 植物内部内生菌的生长和运动	(152)
5.3 内生细菌获得进入宿主植物的途径	(153)
5.4 宿主专一性	(154)
6 内生细菌在农业中的有益作用	(154)
6.1 促生长细菌	(154)
6.2 植物病害的生物防治	(154)
7 未来的发展方向	(156)
参考文献	(163)
第十章 麦角科内生菌进化过程中的生理适应性	(169)
1 引言	(169)
2 麦角菌科内的进化关系	(169)
3 真菌与草类之间的生理互作	(170)
3.1 离体营养需求	(170)
3.2 宿主体内互作	(171)
3.3 外生和内生菌丝之间营养的交换和转移	(174)

3.4 子座中营养交换和运输	(176)
4 生理和进化	(177)
4.1 新的代谢产物	(177)
4.2 协同进化	(179)
参考文献	(180)
第十一章 内生真菌的聚酮化合物和多肽产物：两条次生代谢生物合成领域的变化	(187)
1 引言	(187)
2 聚酮化合物	(188)
2.1 主题1——生物合成机制	(188)
2.2 T—毒素	(191)
2.3 二羟萘黑色素	(192)
3 多肽	(192)
3.1 主题2——非核蛋白质多载体的结构	(192)
3.2 异青霉素 N	(195)
3.3 恩镰孢菌素	(195)
4 聚酮化合物、脂肪酸-多肽混合物	(197)
4.1 环孢霉素	(197)
4.2 HC 毒素	(199)
5 类异戊二烯	(201)
6 结论	(202)
参考文献	(202)
第十二章 牧草类宿主体内生菌的代谢活性、分布和繁殖：GUS 报道基因研究结果	(210)
1 引言	(210)
2 宿主体内生菌的基因表达	(210)
3 黑麦草分蘖处内生菌的分布和新陈代谢水平	(211)
4 植物体内可能出现的内生菌分布模式	(214)
5 成熟组织中菌丝仍然保持代谢活性：基因调控的本质和真菌次生代谢产物的合成	(219)
6 指导内生菌分布模式进化的可能机制	(220)
7 内生菌的自然选择：内生菌有性生殖遗传材料的繁殖情况研究	(221)
8 结论	(224)
参考文献	(224)
第十三章 内生菌侵染的牧草中的生物碱：化学抗性或生物异常	(229)
1 引言	(229)
2 内生菌产生的生物碱	(231)
3 防御互惠共生	(232)

4	生物碱、生态学和进化	(233)
5	生物碱和真菌营养	(235)
6	生物碱和能量平衡	(236)
7	综述	(237)
	参考文献	(237)
第十四章 禾草植物与内生真菌的协同进化：内生真菌次生代谢产物的重要性 ..		(242)
1	引言	(242)
2	具有生物活性的内生真菌次生代谢产物	(243)
2.1	吡咯双烷类生物碱 (Pyrrolizidine Alkaloids)	(243)
2.2	并吡咯吡嗪类 (Pyrrolopyrazines)	(243)
2.3	麦角类生物碱 (Ergot Alkaloids)	(243)
2.4	吲哚二萜类化合物	(245)
2.5	抗真菌化合物	(245)
2.6	其他类代谢物	(245)
3	内生真菌的系统发育与进化	(246)
4	内生真菌—禾草植物共生关系中次生代谢在进化过程中的选择压力	(248)
4.1	内生真菌—宿主植物的亲和性	(248)
4.2	宿主植物对传播过程中的真菌的选择	(249)
4.3	感染内生真菌植物的选择作用	(250)
5	真菌代谢途径的协同进化	(251)
5.1	相关真菌中次生代谢途径的进化	(252)
5.2	双吡咯烷类 (Pyrrolizidine)	(252)
5.3	并吡咯吡嗪类 (Pyrrolopyrazines)	(252)
5.4	麦角类生物碱	(252)
5.5	吲哚二萜类化合物	(255)
5.6	脂类物质	(257)
5.7	<i>Neotyphodium/Epichloe</i> 中次生代谢物生物合成的进化多样化	(257)
5.8	农业环境中的化学型的选择	(261)
6	植物与真菌的共适应以产生有效防御性化学	(261)
6.1	在共生关系和培养物中的表达	(262)
6.2	植物体内积累的生物碱的分布	(263)
6.3	次生代谢物浓度的季节性变化	(264)
6.4	生长条件对浓度的影响	(265)
6.5	与宿主植物和真菌基因型相关的浓度变化	(265)
7	展望次生代谢的共进化研究	(267)
	参考文献	(269)
第十五章 木本植物内生菌的生态学研究		(282)
1	引言	(282)

2 什么是木本植物的内生菌?	(282)
3 木本植物中内生菌的侵染策略	(283)
4 内生菌侵染的时间和空间模式	(285)
4.1 侵染模式随时间的变化	(285)
4.2 侵入的空间方式	(286)
5 取样问题	(290)
6 内生菌的生态学作用	(291)
6.1 昆虫拮抗作用	(292)
6.2 昆虫拮抗作用的模式	(295)
6.3 叶片老化和脱落	(296)
6.4 内生菌侵染的诱导效应	(297)
6.5 木本植物内生菌的其他生态学作用	(298)
7 结论和未来的方向	(299)
参考文献	(299)
第十六章 内生真菌是否介导了损伤诱导抗性	(305)
1 引言	(305)
2 植物内生菌—昆虫互作生态学研究的历史	(306)
3 内生菌对昆虫取食行为的影响	(306)
4 已报道的昆虫取食抗性的化学基础	(308)
5 寄主植物的诱导反应	(309)
6 牧草—内生菌共生体除诱导抗性的其他作用	(310)
7 诱导抗性假说的实证研究	(312)
7.1 包括茎损伤在内的实验	(312)
7.2 包括根部损伤在内的实验	(317)
8 结论与展望	(319)
参考文献	(320)
第十七章 内生菌 <i>Neotyphodium</i> 侵染的高羊茅草植株的非生物胁迫、形态可塑性 和化学适应性	(330)
1 引言	(330)
2 内生菌侵染的草类对生物胁迫的忍耐性	(332)
3 内生菌侵染的草类对非生物胁迫的耐性	(333)
3.1 耐旱性	(333)
3.2 光照和温度	(334)
3.3 土壤酸度	(336)
3.4 耐矿物质胁迫	(336)
4 总结和结论	(342)
参考文献	(342)

下篇 实验技术

第一章 内生菌的分离培养 (355)

1 内生菌的分离与培养 (355)

1.1 内生细菌的分离与培养 (355)

1.2 内生真菌的分离与培养 (356)

参考文献 (356)

第二章 内生菌的活性评价方法 (357)

1 离体抑菌活性测定 (357)

1.1 内生细菌—病原真菌平板对峙法 (357)

1.2 内生真菌—病原真菌平板对峙法 (357)

1.3 内生细菌—病原细菌牛津杯法 (357)

1.4 纸片扩散法 (357)

1.5 内生菌—病原细菌无菌滤液抑菌法 (358)

1.6 内生菌—病原真菌无菌滤液抑菌法 (358)

2 活体抑菌活性测定 (358)

2.1 果实针刺测定法 (358)

2.2 真叶法 (358)

2.3 伤根接种法 (359)

参考文献 (359)

第三章 内生菌的保藏 (360)

1 微生物菌种保藏的基本原理 (360)

2 微生物菌种的保藏方法 (360)

2.1 定期移殖法 (360)

2.2 液体石蜡保藏法 (360)

2.3 沙土管保藏法 (361)

2.4 真空冷冻干燥保藏法 (361)

2.5 冷冻保藏法 (361)

2.6 基因工程菌的保藏 (362)

2.7 固定化技术 (362)

3 总结 (362)

参考文献 (362)

第四章 内生菌的鉴定和多样性分析 (363)

1 菌株鉴定 (363)

1.1 细菌菌株鉴定 (363)

1.2 内生真菌鉴定 (365)

2 多样性分析	(365)
2.1 培养 (Culture-dependent) 方法	(365)
2.2 非培养 (Culture-independent) 方法	(366)
参考文献	(371)
实例 I 香蕉内生细菌 BEB2 菌株对香蕉枯萎病的防治作用研究	(373)
1 材料	(373)
2 方法	(375)
3 结果	(380)
参考文献	(381)
实例 II 香蕉根部内生细菌种群多样性分析	(382)
1 材料	(382)
2 方法	(385)
(1) 转化平板的制备	(388)
(2) 转化	(388)
(1) PCR 反应体系:	(389)
3 结果	(395)
参考文献	(396)
实例 III 内生细菌诱导香蕉系统抗病性的初步研究	(397)
1 材料	(397)
2 方法	(398)
3 结果	(402)
参考文献	(403)
实例 IV 香蕉嗜铁内生细菌 BEB3 的分离鉴定及其生防机理初探	(404)
1 材料	(404)
2 方法	(405)
3 结果	(409)
参考文献	(410)
实例 V 臂形草内生真菌菌株 HND5 的分离鉴定与抗病作用研究	(411)
1 材料与方法	(411)
2 结果	(422)
参考文献	(424)

上 篇

第一章 内生微生物概述

1 引言

陆生植物为微生物提供着复杂的、时间及空间上多样的生态环境，微生物和植物之间共生关系历史久远，也很重要，人们对很多植物和微生物间复杂且高度专一的共生关系做了很多研究。目前，内生菌引起了真菌学家、生态学家和植物病理学家越来越广泛的关注，因为内生菌是与陆生植物和部分水生植物的不同组织和器官紧密相联的一个特殊微生物种群。内生菌对植物的感染并不易被观察到，因为受到感染的寄主组织短期内并不表现出症状。通过分离的方法从不表现症状的植物组织中获得定殖的微生物，或者直接扩增植物组织中定殖的真菌核糖体 DNA，这些均可以证明微生物在植物组织内部的定殖。现在已经知道，内生菌感染陆生植物是普遍存在的，在许多目、科、属的植物中都有发现，它们分属于不同的陆生和水生生境。

在生物学和生态学方面，内生菌存在各种各样的营养模式，从活体营养的寄生物到中性或兼性腐生物，它们与寄主的关系包括活体营养的共生体、死体营养的共生体和具有拮抗性的病原体。从生态学角度考虑，互作关系指的是与寄主植物、病原体、内生菌及食草动物之间的关系。寄主内及寄主间的内生菌种群组成和分布、在适合的寄主中定殖的内生菌之间互惠的生态学效应，以及植物群落的组成，这些都是内生菌研究学家和植物生态学家共同关注的问题。关于内生菌感兴趣的研究包括对内生菌、寄主和草食动物之间的相对多样性、群落分析、解剖组织学关系，有机体生物学、生物多样性研究、种群生态学、进化生物学和生态学关系。在微生物物种形成和生物多样性方面，内生性是一个很重要的因子。不断累积的证据表明，内生菌是一个很大的遗传多样性储存库，而且是至今未被充分认识的丰富的资源种群。内生菌的实际应用包括：潜在的生防制剂、利用其次生代谢物资源研制新的药物或用于植物保护和工业应用，以及可以作为一种研究模型系统，用来研究自然系统中寄主—寄生物之间的互作和进化。

2 定义

目前，研究内生菌的学者对“内生菌”这个词所强调的重点以及所下的定义有所不同，由此可以反映出内生菌的生物与生态多样性。通常，不同的研究者利用“endophyte”、“endophytic”等术语来表达特定的意思，如指特殊的寄主和微生物种群。但“endophyte”和“endophytic”这两个术语在不同系统中的应用仍具有一些争议。对研究