

范雨, 唐小乐, 刘庆华, 尹春英. 木本植物种子内生菌研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28 (5): 1375-1383

Fan Y, Tang XL, Liu QH, Yin CY. Advances in the study of endophytes in woody plant seeds [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2022, 28 (5): 1375-1383

木本植物种子内生菌研究进展

范雨^{1,2} 唐小乐^{1,2} 刘庆华¹ 尹春英¹✉

¹中国科学院山地生态恢复与生物资源利用重点实验室, 生态恢复与生物多样性保育四川省重点实验室, 中国科学院成都生物研究所 成都 610041

²中国科学院大学 北京 100049

摘要 森林生态系统中几乎所有的植物都与内生菌共生, 许多植物没有内生菌不能正常生长发育. 近年来内生菌对植物生长和健康的重要性逐渐受到重视, 但现有研究主要集中在农作物上, 关于木本植物的内生菌尤其是种子相关的内生菌, 研究十分缺乏. 木本植物种子内生菌种类繁多, 可分为内生细菌 (如假单胞菌属 *Pseudomonas*、芽孢杆菌属 *Bacillus* sp.、欧文氏菌属 *Erwinia* sp.等)、内生真菌 (如链格孢属 *Alternaria* sp.、枝孢属 *Cladosporium* sp.、镰刀菌属 *Fusarium* sp.等) 和内生放线菌 (如链霉菌属 *Streptomyces* 和拟诺卡氏菌属 *Nocardopsis*等). 环境中的微生物通过根际、茎圈、叶圈、花球圈以及心皮圈等定殖于木本植物的各个器官, 传递到种子组成种子内生菌. 内生菌在种子中占据着内种皮、胚、胚乳等生态位. 宿主植物可选择有益的内生菌, 通过种子垂直传播给下一代. 木本植物种子内生菌不仅可以直接促进种子的萌发和幼苗的建立, 还可产生次生代谢产物预防植物病害、保护植物健康等, 但也有种子内生菌对种子萌发和植物生长产生有害作用. 未来, 随着宏基因组技术的发展, 可在分子水平上深入研究木本植物种子内生菌种类、定殖与传播途径等; 另外, 聚焦木本植物种子内生菌次生代谢产物开发方面的研究, 可在植物病虫害防治方面产生实际应用价值. (图1表1参70)

关键词 木本植物; 种子内生菌; 定殖途径; 垂直传播

Advances in the study of endophytes in woody plant seeds

FAN Yu^{1,2}, TANG Xiaole^{1,2}, LIU Qinghua¹ & YIN Chunying¹✉

¹ CAS Key Laboratory of Mountain Ecological Restoration and Bioresource Utilization & Ecological Restoration and Biodiversity Conservation Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Almost all plants in forest ecosystems live in symbiosis with endophytes, and many plants cannot grow normally without endophytes. In recent years, the importance of endophytes for plant growth and health has gradually attracted attention. However, most current studies focused on crops, and studies on woody plant endophytes, especially seed-related endophytes, are very rare. There are many species of endophytes in woody plant seeds, which are divided into endophytic bacteria (e.g., *Pseudomonas*, *Bacillus* sp., and *Erwinia* spp.), endophytic fungi (e.g., *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., and *Fusarium* sp.), and endophytic actinomycetes (e.g., *Streptomyces* and *Nocardopsis*). Microorganisms in the environment colonize various organs of woody plants: through the rhizosphere, caulosphere, phyllosphere, anthosphere, or carposphere, and are transmitted to the seeds to form seed endophytes. Endophytes occupy niches such as endosperms, embryos, and endosperms in seeds. Host plants can choose beneficial endophytes to transmit vertically to the next generation through seeds. Woody plant seed endophytes can directly promote seed germination and seedling establishment and produce secondary metabolites to prevent plant diseases and protect plant health. However, some woody plant seed endophytes are harmful to seed germination and plant growth. With the development of metagenomics technology, it will be possible to research seed endophyte species, colonization, and transmission methods at the molecular level. In addition, studying the secondary metabolites of woody plant seed endophytes could have practical applications in plant disease and pest control.

Keywords woody plant; seed endophyte; colonization; vertical transmission

植物内生菌是指在生活史的某一阶段或全部阶段生活于健康植物的各种组织和器官内部, 对植物组织没有引起明显病害症状的微生物^[1]. 许多研究从表面消毒的植物器官如根、茎、叶、果实和种子中发现了内生菌^[2]. 木本植物种子内生菌早

在20世纪六七十年代^[3-4]被分离出来, 但由于取样样本的局限性, 且大多数内生菌是不可培养的, 目前大部分研究局限于可培养的内生菌^[5], 对木本植物种子内生菌的研究并不系统.

种子是木本植物繁殖的重要器官, 利于在新环境中扩散

收稿日期 Received: 2021-04-26 接受日期 Accepted: 2021-07-14

四川省应用基础研究项目 (2020YJ0201) 和国家自然科学基金项目 (32071500) 资助 Supported by the Sichuan Science and Technology Program (2020YJ0201) and the National Natural Science Foundation of China (32071500)

✉通信作者 Corresponding author (E-mail: yincy@cib.ac.cn)

和适应,特别是在野外环境中大多数木本植物靠种子繁殖,种子能长时间处于迟钝状态,在适宜条件下发育成新的植株^[6]。在森林生态系统中,受鸟类、食草动物、病原体和恶劣环境的影响,木本植物在种子和幼苗阶段通常是死亡率最高的。因此,提高种子和幼苗的成活率对于木本植物的繁殖至关重要。在生态系统中,种子与许多有益微生物结合^[7],种子内生菌能够促进种子萌发和幼苗生长,并保护幼苗免受伤害^[6],为植物早期定植提供条件。

木本植物种子内生菌世代相传,可以垂直传播到下一代。种子内生菌经过宿主植物长期的进化选择,具有与宿主植物高度相似的内生菌种类。种子能为内生菌提供一个相对稳定的保护场所^[5],避免外界环境对内生菌造成伤害。研究证明含有内生菌的种子能够提高种子萌发率和幼苗成活率,对于提高人工林疾病的抵抗力和恢复力也具有重要作用^[8]。另外,许多内生菌能合成生长素、细胞分裂素等激素促进宿主植物生长,产生固氮酶、溶磷酶、铁载体促进宿主植物对营养元素的吸收^[9-11]。在林业生产上,通过使用内生菌育种,生产具有抗病虫害的种子,并将内生菌传播到子代,可对森林生态系统具有持续的有益影响^[5]。

虽然木本植物种子内生菌在森林更新和健康中具有潜在积极作用,但与作物种子内生菌相比,几乎没有受到关注^[12]。了解清楚木本植物种子内生菌,是如何被树木吸收、传播到种子并影响种子发芽和幼苗生长,对于森林生态系统发展至关重要。因此,本文综述了木本植物种子内生菌的种类、定殖途径、传播方式以及它们对木本植物的作用,试图阐述种子内生菌的组成、定殖途径及在种子中的生态位等问题,为木本植物种子内生菌的研究和应用提供一定的参考。

1 木本植物种子内生菌的组成

1.1 种类

木本植物种子内生菌种类繁多,分为内生细菌、内生真菌和内生放线菌^[13]。Fort等证实木本植物种子中含有拮抗病原菌,母株不仅将病原体传播至后代,还将拮抗病原菌传播给后代,避免对后代产生病害作用^[12]。近年来,有关树木内生菌的研究多集中在叶内生菌上,这些研究认为叶内生菌丰富度远远高于种子内生菌^[14]。但最新研究表明,木本植物种子存在丰富多样的内生菌群落^[13]。对木本植物种子内生菌丰富度的研究常采用培养法和荧光原位杂交(FISH)法^[5]。培养法将表面消毒的种子在培养基上培养,挑取单菌落纯化培养,提取DNA进行16S rRNA基因序列分析进行菌种鉴定;荧光原位杂交法主要用于确定植物组织中是否存在内生菌,将树脂包埋的植物组织切片染色或用特定的细菌探针,在荧光显微镜下观察内生菌位置,可确定内生菌在木本植物种子中的生态位。若在显微镜下未观察到种子内生菌,可继续采用宏基因组分析,确定种子中所有可存活但没有观察到的内生菌。

基于以上研究方法,科研人员已经从松属植物种子,如落叶松(*Larix gmelinii* (Rupr.) Kuzen.)、蒙地松(*Pinus monticola*)、美国黄松(*Pinus ponderosa*)、美国黑松(*Lodgepole pine*)、湿地松(*Pinus elliottii*)^[13-18]、挪威云杉(*Picea abies*)、白蜡树(*Fraxinus* sp.)、橡树(*Quercus palustris* Münchh.)、无梗花栎(*Quercus petraea*)、鸡爪槭(*Acer palmatum* Thunb.)、喜树(*Camptotheca acuminata* Decne.)、桉树(*Eucalyptus*)、西加云杉(*Sitka spruce*)等木本植物的种子中分离鉴定出了多种内生菌^[12-13, 19-23]。汇总以上研究结果来看,在属水平上,

种子内生细菌主要有假单胞菌属(*Pseudomonas*)、泛菌属(*Pantoea*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus* sp.)、欧文氏菌属(*Erwinia* sp.)、甲基杆菌属(*Methylobacterium* sp.)、多种芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)等^[15, 19-21, 23]。种子内生真菌主要有链格孢属(*Alternaria* sp.)、枝孢属(*Cladosporium* sp.)、球腔菌属(*Mycosphaerella*)、附球菌属(*Epicoccum* sp.)、青霉菌属(*Penicillium* sp.)、拟茎点霉属(*Phomopsis* sp.)等^[14, 16, 21, 24-25]。种子内生真菌还包括一些病原真菌,例如多孢链霉菌(*Sydowia polyspora*)、木霉属(*Trichoderma* sp.)、曲霉属(*Aspergillus*)等^[16, 24-27],这些病原菌降低种子活力,影响种子萌发和幼苗发育,而且多孢链霉菌还可能在树木生长过程中造成叶枯病^[16]。相比内生细菌与内生真菌,木本植物种子内生放线菌的研究相对较少,目前已从喜树和桉树中分离鉴定出了链霉菌(*Streptomyces*)、拟诺卡氏菌属(*Nocardiopsis*)、弗兰克氏菌科(*Frankiaceae*)^[22, 25]。具体木本植物内生菌种类见表1。

1.2 木本植物种子内生菌丰富度和群落组成的影响因素

木本植物种子中含有种类丰富的内生菌,不同内生菌共同组成内生菌群落。内生菌在种子中数量不同,因此种子具有不同的内生菌丰富度^[36]。种子内生菌丰富度和群落组成受许多因素的影响,如种子基因型以及种子和幼苗发育的环境条件等。了解木本植物种子相关内生菌的丰富度和群落组成的因素对于树木健康具有重要作用^[13]。

宿主是决定着内生菌丰富度和组成的关键因素,植物有能力选择有价值的定殖内生菌^[11]。Franić等认为木本植物种子内生菌群落丰富度与组成最主要受宿主的影响,不受环境和宿主分布范围的影响^[13]。U'Ren等对北方森林的研究表明内生菌群落丰富度和组成不受地理或环境的改变^[37],决定因素是宿主植物的过滤作用。同样地,Harrison等跨空间尺度对植物内生菌组成进行了研究^[38],证明宿主植物的过滤作用最为关键。木本植物种子可随动物取食、动物携带、经济贸易等移动,内生菌随之移动,并在新环境中传播和建立,其过程受宿主植物可用性的限制^[37]。除此之外,木本植物种子内生菌丰富度和组成可能还与宿主植物年龄有关。姚晓玲等从未成熟的喜树种子中分离出24株放线菌,成熟种子中分离出9株放线菌,未成熟种子内生菌数量远远高于成熟种子数量^[22]。但在木本植物叶片中,出现相反的情况:在花旗松(*Pseudotsuga menziesii*)中树龄较老的树比树龄小的树更容易被内生菌感染,这是因为较老的树冠层较高,增加了风生孢子的交换^[39]。以往的研究,尽管将内生菌与宿主的生态功能联系起来了解内生菌的分布,然而宿主植物的地理位置与气候的关系会混淆内生生物地理学,因此内生真菌多样性的驱动因素尚待研究。真菌受非生物条件,如温湿度、风和光等的巨大影响^[40],因此这些环境因素有可能会影响木本植物种子内生菌的丰富度和组成,但也有研究表明年平均温度与降水不会对植物内生菌丰富度产生影响^[37]。

2 木本植物种子内生菌的定殖策略

2.1 定殖途径以及来源

研究木本植物种子内生菌时,了解内生菌在种子中的生态位与定殖途径是很重要的。内生菌在种子中占据不同的生态位^[41],可通过荧光原位杂交技术观察分析内生菌在种子不同部位的定殖状况,使种子内生菌的研究可视化。了解定殖过程

表1 木本植物种子内生菌种类
Table 1 Endophyte species in woody plant seeds

内生菌 Endophyte	科/属 Family/genus	植物 Plant
内生细菌 Endophytic bacteria	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	挪威云杉 <i>Picea abies</i> ^[19] 橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21] 美国黄松 <i>Pinus ponderosa</i> ^[15] 阿拉伯咖啡 <i>Coffea Arabica</i> ^[28]
	拉恩氏菌属 <i>Rahnella</i>	挪威云杉 <i>Picea abies</i> ^[19]
	泛菌属 <i>Pantoea</i>	白蜡树 <i>Fraxinus</i> spp. ^[20] 美国矮松 <i>Pinyon edulis</i> ^[15] 阿拉伯咖啡 <i>Coffea Arabica</i> ^[28]
	红球菌属 <i>Rhodococcus</i>	白蜡树 <i>Fraxinus</i> spp. ^[20]
	微小杆菌属 <i>Exiguobacterium</i>	白蜡树 <i>Fraxinus</i> spp. ^[20]
	葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i> sp.	白蜡树 <i>Fraxinus</i> spp. ^[20] 美国矮松 <i>Pinyon edulis</i> ^[15]
	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> sp.	白蜡树 <i>Fraxinus</i> spp. ^[20] 桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[23] 美国黄松 <i>Pinus ponderosa</i> ^[15] 美国矮松 <i>Pinyon edulis</i> ^[15] 阿拉伯咖啡 <i>Coffea Arabica</i> ^[28]
	高地芽孢杆菌 <i>Bacillus altitudinis</i>	葡萄 <i>Vitis vinifera</i> L. ^[5]
	简单芽孢杆菌 <i>Bacillus simplex</i>	葡萄 <i>Vitis vinifera</i> L. ^[5]
	苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	葡萄 <i>Vitis vinifera</i> L. ^[5]
	解淀粉芽孢杆菌 <i>Paenibacillus amylolyticus</i>	葡萄 <i>Vitis vinifera</i> L. ^[5]
	金黄色葡萄球菌 <i>Paenibacillus amylolyticus</i>	葡萄 <i>Vitis vinifera</i> L. ^[5]
	黄曲霉杆菌 <i>Curtobacterium</i> sp.	阿拉伯咖啡 <i>Coffea Arabica</i> ^[28]
	巨大芽孢杆菌属 <i>Bacillus megaterium</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[23]
	丙酸杆菌属 <i>Propionibacterium</i>	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	丛毛单胞菌科 Delftia	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	肠杆菌科 Enterobacteriaceae	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	肠杆菌属 <i>Enterobacter</i> spp.	美国矮松 <i>Pinyon edulis</i> ^[15]
	γ-变形杆菌 <i>Gammaproteobacteria</i> sp.	美国矮松 <i>Pinyon edulis</i> ^[15]
	欧文氏菌属 <i>Erwinia</i> sp.	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21] 美国矮松 <i>Pinyon edulis</i> ^[15]
	鞘氨醇单胞菌 <i>Sphingomonas</i> sp.	美国矮松 <i>Pinyon edulis</i> ^[15]
	拟杆菌属 <i>Paenibacillus</i> sp.	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[23]
	腐殖拟杆菌属 <i>Paenibacillus humicus</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[23]
	孟氏肠球菌属 <i>Enterococcus mundtii</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[23]
	甲基杆菌属 <i>Methylobacterium</i> sp.	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[23]
	可变甲基杆菌属 <i>M. variabile</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[23]
	赖氨酸杆菌属 <i>Lysinibacillus</i> sp.	美国黄松 <i>Pinus ponderosa</i> ^[15]
	嗜冷杆菌 <i>Psychrobacillus</i> sp.	美国黄松 <i>Pinus ponderosa</i> ^[15]
	间座壳属 <i>Diaporthe</i> sp.	金鸡纳属 <i>Cinchona ledgeriana</i> ^[29]
	伯克霍尔德菌 <i>Burkholderia</i>	阿拉伯咖啡 <i>Coffea Arabica</i> ^[28]
	弗氏耶尔森氏菌 <i>Yersinia frederiksenii</i>	阿拉伯咖啡 <i>Coffea Arabica</i> ^[28]
	微球菌 <i>Micrococcus</i> sp.	阿拉伯咖啡 <i>Coffea Arabica</i> ^[28]
	寡氧单胞菌 <i>Stenotrophomonas</i> sp.	阿拉伯咖啡 <i>Coffea Arabica</i> ^[28]
内生真菌 Endophytic fungi	链格孢属 <i>Alternaria</i> sp.	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21] 茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24] 美国黑松 <i>Lodgepole pine</i> ^[16] 桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[25]
	德巴利氏酵母属 <i>Debaryomyces</i>	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	芹菜角弯属 <i>Apiognomonia</i>	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	黑腐皮壳菌科 Valsaceae	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	子囊菌 Ascomycota	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	球腔菌属 <i>Mycosphaerella</i>	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	马拉色菌属 <i>Malassezia</i>	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	金担子菌属 <i>Aureobasidium</i>	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21]
	附球菌属 <i>Epicoccum</i> sp.	橡树 <i>Quercus palustris</i> Münchh. ^[21] 茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24]
	鹅耳枥外囊菌 <i>Taphrina carpini</i>	无梗花栎 <i>Quercus petraea</i> ^[12]
	纤细枝孢菌 <i>Cladosporium delicatulum</i>	无梗花栎 <i>Quercus petraea</i> ^[12]
	黑附球菌 <i>Epicoccum nigrum</i>	无梗花栎 <i>Quercus petraea</i> ^[12]
	苏铁弯曲杆菌 <i>Curvibasidium cygneicollum</i>	无梗花栎 <i>Quercus petraea</i> ^[12]
	炭疽菌属 <i>Colletotrichum</i>	鸡爪槭 <i>Acer palmatum</i> Thunb. ^[13]
	壳针孢属 <i>Septoria</i>	鸡爪槭 <i>Acer palmatum</i> Thunb. ^[13]
	红酵母属 <i>Rhodotorula</i>	落叶松 <i>Larix gmelinii</i> (Rupr.) Kuzen. ^[13]
	亚隔孢壳属 <i>Didymella</i>	落叶松 <i>Larix gmelinii</i> (Rupr.) Kuzen. ^[13]
	半胱氨酸杆菌 <i>Cystobasidium</i>	落叶松 <i>Larix gmelinii</i> (Rupr.) Kuzen. ^[13]
	Kabatina	松属 <i>Pinus</i> ^[13]
	副孢子菌 <i>Parastaganospora</i>	水青冈属 <i>Fagus</i> ^[13]
	穆里噬菌体 <i>Muriphaeosphaeria</i>	水青冈属 <i>Fagus</i> ^[13]

续表1 Table 1 (continued)

内生菌 Endophyte	科/属 Family/genus	植物 Plant
内生真菌 Endophytic fungi	球果伞属 <i>Strobilurus</i>	云杉属 <i>Picea</i> ^[13]
	<i>Hormonema</i>	蒙地松 <i>Pinus monticola</i> ^[14]
		桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[25]
	白僵菌 <i>Beauveria</i>	蒙地松 <i>Pinus monticola</i> ^[14]
		蒙地松 <i>Pinus monticola</i> ^[14]
		茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24, 30]
	枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp.	美国黑松 <i>Lodgepole pine</i> ^[16]
		桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[25]
		香椿 <i>Toona sinensis</i> Roem ^[31]
	地丝霉属 <i>Geomyces</i>	蒙地松 <i>Pinus monticola</i> ^[14]
	肉毒杆菌属 <i>Sarcinomyces</i>	蒙地松 <i>Pinus monticola</i> ^[14]
		黄松 <i>Pinus ponderosa</i> ^[26]
	多孢链霉菌 <i>Sydowia polyspora</i>	美国黑松 <i>Lodgepole pine</i> ^[16]
		松属 <i>Pinus</i> ^[27]
	拟茎点霉属 <i>Phomopsis</i> sp.	茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24, 30]
	脉孢菌 <i>Neurospora</i> sp.	茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24]
	茎点霉属 <i>Phoma</i> sp.	茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24, 30]
		茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24]
	青霉菌属 <i>Penicillium</i> sp.	美国黑松 <i>Lodgepole pine</i> ^[16]
		茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24, 30]
	镰刀菌属 <i>Fusarium</i> sp.	美国黑松 <i>Lodgepole pine</i> ^[16]
		桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[25]
	腐皮镰刀菌 <i>Fusarium solani</i>	夹竹桃 <i>Tabernaemontana heyneana</i> Wall. ^[32]
	枯萎镰刀菌 <i>Fusarium subglutinans</i>	辐射松 <i>Pinus radiata</i> ^[33]
	木霉属 <i>Trichoderma</i> sp.	茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24]
	景天侧耳孢属 <i>Pleosporales Incertae Sedis</i>	茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[24]
	卡氏根瘤菌 <i>Rhizosphaera kalkhoffii</i>	美国矮松 <i>Pinyon edulis</i> ^[15]
	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[25]
	黑孢属 <i>Nigrospora</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[25]
	拟盘多毛孢属 <i>Pestalotiopsis</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[25]
	色二孢菌 <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	松属 <i>Pinus</i> ^[27]
	中间双孢 <i>Diplodia intermedia</i>	松属 <i>Pinus</i> ^[27]
	曲弗里弯孢霉 <i>Curvularia trifolii</i>	夹竹桃 <i>Tabernaemontana heyneana</i> Wall. ^[32]
	外瓶霉属 <i>Exophiala</i> sp.	夹竹桃 <i>Tabernaemontana heyneana</i> Wall. ^[32]
	沃德霉属 <i>Wardomyces</i> sp.	夹竹桃 <i>Tabernaemontana heyneana</i> Wall. ^[32]
	<i>Diplodia sapinea</i>	松属 <i>Pinus</i> ^[27] , 科西嘉松 <i>Corsican pine</i> ^[34]
	<i>Caloscypha fulgens</i>	西加云杉 <i>Sitka spruce</i> ^[35]
	<i>Incertae sedis</i> sp.	茶条槭 <i>Acer ginnala</i> Maxim ^[30]
	可可毛色二孢 <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	湿地松 <i>pinus elliottii</i> ^[17-18] , 松属 <i>Pinus</i> spp. ^[28]
内生放线菌 Endophytic actinomycetes	链霉菌 <i>Streptomyces</i>	喜树 <i>Camptotheca acuminata</i> Decne. ^[22]
	拟诺卡氏菌属 <i>Nocardioopsis</i>	喜树 <i>Camptotheca acuminata</i> Decne. ^[22]
	弗兰克氏菌科 <i>Frankiaceae</i>	桉树 <i>Eucalyptus</i> ^[23]

未标注中文的拉丁名未查到对应中文名。

The Latin name without Chinese is Chinese name not found.

能更好地预测微生物与植物的相互作用,以及在实际应用中内生菌是否可以在环境中建立自己的地位非常重要。

土壤中有丰富多样的微生物,在木本植物种子中检测到的内生菌如芽孢杆菌、假单胞菌、欧文氏菌等,与土壤微生物菌群相似^[42-43]。木本植物幼苗生长过程中,根系着生在土壤中,土壤微生物可通过初生根、侧根裂缝以及植物生长过程中的各种组织伤口进入根系^[44]。有的细菌如伯克霍氏菌(*Burkholderia* sp.)能分泌内葡聚糖酶和内半乳糖醛酸酶降解植物细胞壁,进入根的内部组织^[45];肠杆菌属JM22(*Enterobacter asburiae* JM22)和荧光假单胞菌89B-61(*Pseudomonas fluorescens* 89B-61)进入植物体依赖于水解植物细胞壁纤维素的能力^[1]。另外,如果植物根系受伤,更多分泌物从伤口渗出,吸引土壤中的微生物,进而定殖植物体^[46]。这些细菌进入植物体取决于宿主植物的过滤作用,如前文所述,宿主可以选择有益的微生物定殖体。进入根内部后,微生物通过木质部维管系统(木质部导管定殖可以解释来自根际的内生菌的定殖途径^[47])、蒸腾作用等向植物地上部分移

动,微生物可向花、果实和种子等生殖器官迁移,随着植物生殖器官的成熟,进入子房定殖胚珠中,胚珠进而发育成种子,微生物成功定殖于种子,组成种子内生菌^[48]。Compant等先后从微生物由植物根际到植物组织定殖的各个步骤^[5, 45, 47],系统研究了不同内生菌对葡萄的定殖途径与生态位:用伯克霍氏菌(*Burkholderia* sp.)菌株PsJN接种葡萄,了解微生物的定殖途径,最终在葡萄根表面、花序、种子等各个器官中被检测到,证明了微生物从根系进入植物体后向植物上部传递。Compant等在2011年又进行了一项试验,对葡萄接种芽孢杆菌,应用荧光原位杂交技术在种子不同部分的部分切片中发现了内生菌,证明芽孢杆菌可能只定殖种子的某些部分^[5]。

除了来自土壤的定殖途径,微生物还可通过茎圈、叶圈、花球圈以及心皮圈定殖植物的各个器官,进而定殖种子(图1)。空气和雨水中的微生物通过叶片气孔^[49]、茎皮孔等进入植物叶片和茎中,进一步扩展到导管,进而传输至种子,组成种子内生菌^[50]。尽管空气中有丰富的微生物群,但由于其和种子发生关联是短暂和偶然的,因此空气中的微生物不太可能对

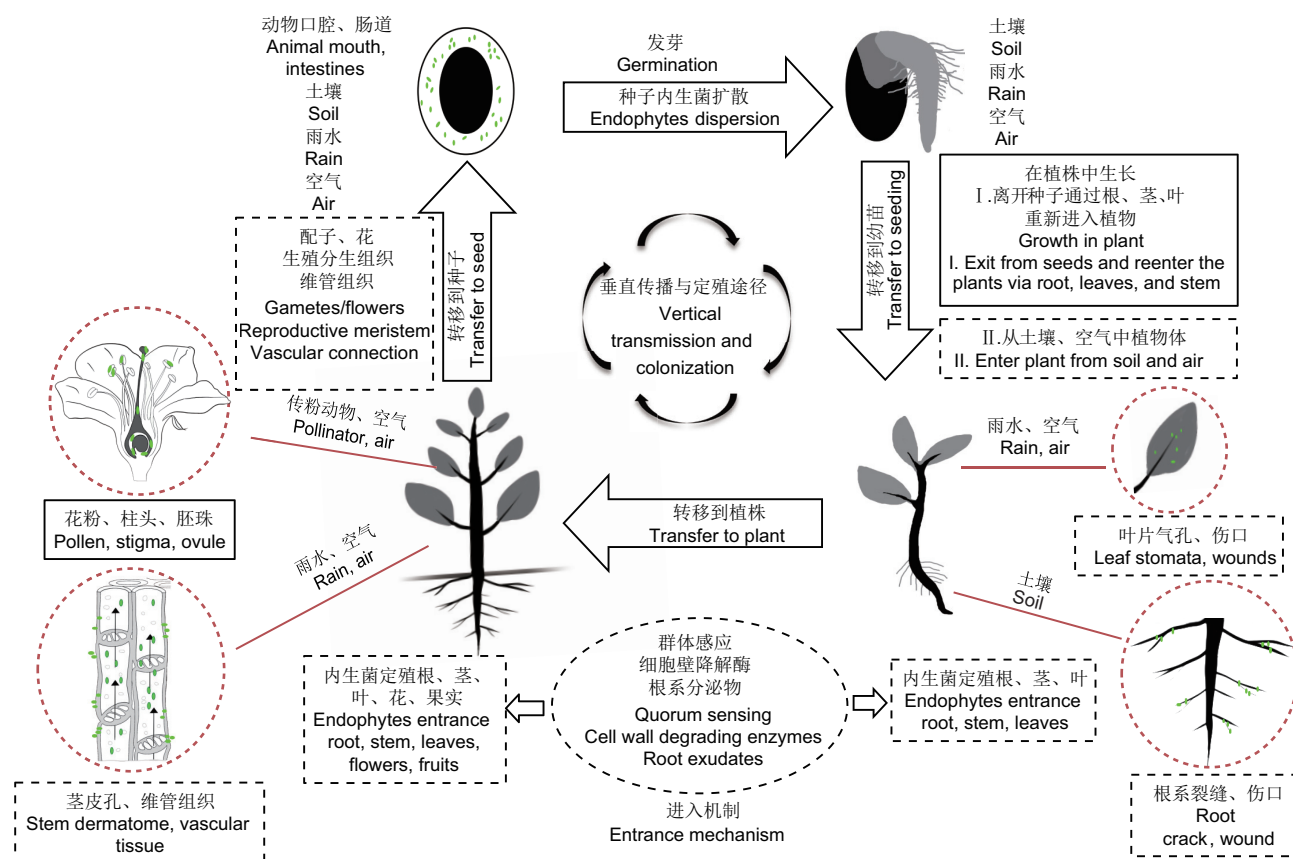


图1 木本植物种子内生菌的垂直传播与定殖途径。虚线框中代表定殖途径，实线框代表垂直传播，图片修改自文献 [8, 47]。

Fig. 1 Vertical transmission and colonization of endophytes in woody plants seeds. The dotted line represents the colonization pathway, and the solid line represents the vertical transmission. Drawing modified from Ref [8, 47].

种子内生菌作出重大贡献^[51]。花是种子发育的场所，由于它在植物体上的位置，有助于微生物通过空气、雨水和传粉者（蜜蜂、蝴蝶、鸟类、蚂蚁等）传播至花球圈，微生物通过子房上的花朵气孔进入，定殖于生殖器官内部^[5]。木本植物种子发育时间较长，例如松树种子约在授粉后18个月成熟^[15]，如此长的发育期对微生物定殖种子提供充分的条件。Deckert等对微生物或微生物繁殖体（孢子）等可能进入松树种子的途径进行了详细的阐述^[15]：松树通过有丝分裂产生配子，二倍体花粉母细胞减数分裂形成花粉锥，产生四个花粉粒（不成熟的微型配子体）。花粉发育过程中，花粉锥中的微生物会进入花粉上或花粉中。花粉随风散播，裸子植物孢子体发达，配子体退化，胚珠裸露，传粉时胚珠上的传粉滴将花粉粘住^[52]。花粉在胚珠的授粉腔中形成花粉管，通过花粉管萌发将精子输入胚珠，微生物随之进入胚珠，若定殖成功，则随胚珠发育成种子成为种子内生菌。内生菌定殖后，形成内生孢子，这是种子内生菌定殖成功的一个重要特征，在种子成熟过程中受到保护以便后续发育。也有报道说微生物定殖在茎（芽）或胚的分生组织中，使某些微生物在分化过程中被带入种子^[53]。果实或种子散播过程中可被动物取食、反当然后排便，种子暴露在不同的微生物群中，动物口腔和肠道中的微生物如肠杆菌属可能在这期间定殖于种子，组成种子内生菌^[51]。

2.2 定殖生态位

目前对木本植物种子内生菌定殖生态位的研究，虽然可采用荧光原位杂交法利用显微镜分析其定殖生态位，但对于自然条件下木本植物内生菌在种子中定殖的生态位了解

相对较少^[5]。种子各部分发育成幼苗对应部分，确定内生菌在种子中的哪些部位存在，对于种子萌发和幼苗生长提供一定的依据，因此，了解内生菌定殖的位置非常重要。微生物定殖于种子中，免受外界环境影响，并且种子能为内生菌提供生存所需的糖类、氨基酸、有机酸等营养物质，因此种子对于微生物定殖是具有吸引力的，但仅有部分微生物能适应种子内部环境^[51]。

木本植物种子一般由种皮、胚、胚乳三部分组成，有的植物成熟的种子只有种皮和胚两部分。在种子发育过程中，特别是积累贮藏物质时，内生菌菌丝随处可见^[16]。Paul等在2013年从美国黑松种子的种皮和大配子体分离到真菌培养物^[16]。Fort等以表面灭菌的无梗花楸种子为材料，发现内生菌存在于内种皮和胚中，以子囊菌为主，种皮内生菌占79.1%，胚内生菌占83%^[12]。Compant等采用培养法和荧光原位杂交法对葡萄种子内生菌生态位进行了探究^[5]，发现芽孢杆菌在种子胚乳细胞壁上存在。Abdelfattah等分析了橡树种子不同部位内生菌^[21]，发现内生菌主要存在于种子胚中，并且胚中的微生物多样性是果皮的2-4倍，主要以假单胞菌为主。相比种皮，定殖到胚和胚乳上的内生菌更可能垂直传播到下一代。因为胚是由胚根、胚轴、胚芽和子叶组成，种子萌发时，胚根突破种皮发育成主根，胚轴发育成茎，胚芽发育成茎和叶，子叶成为绿叶，种子发育成新的植株。种子中的大部分内生菌随之进入植物幼苗的根系、叶片等部位，在植物生长发育中发挥作用。

3 木本植物种子内生菌的传播方式

木本植物种子内生菌被称为系统性内生菌^[54],主要是通过垂直传播获得的,垂直传播是指母体植物通过种子将微生物直接传递给后代,即从一个宿主世代传递到种子中的下一个世代^[12]。种子中的内生菌有可能世代传播,但是很少有内生菌能在植物上连续世代定殖。种子内生菌的世代遗传能力取决于微生物与植物基因型的相互作用^[44]。如果在某种木本植物连续几个世代中发现相同的内生菌群,则可认为这些垂直传播的内生菌群在植物适应性方面起着重要的作用^[23]。只有合适的内生菌群才能够适应种子内部环境,在植物体中持续传代。

垂直传播将有益内生菌传递给下一代,使种子先天便拥有了内生菌,并且在传播过程中减弱有害微生物的致病性,种子内生菌在木本植物种子萌发^[11]和幼苗定植阶段^[55]直接起作用,促进植物适应当地生物与非生物条件。随着木本植物幼苗的生长,种子内生菌可通过植物维管组织向上转移到茎、叶等器官中(图1)。Ferreira等首次对10种桉树种子内生细菌传播方式进行研究^[23]证明,芽孢杆菌、肠球菌、拟杆菌、甲基杆菌等桉树种子内生细菌等均能从种子向幼苗垂直转移。并且将标记了*gfp*基因的内生细菌聚集泛菌(*Pantoea agglomerans*)作用于表面消毒的种子,种子成苗后,在荧光显微镜下对幼苗根、茎、叶进行观察,在根细胞间与茎木质部导管内观察到了聚集泛菌。证明了内生菌可以从种子垂直传播到幼苗,保证了宿主植物中有微生物群落的支持。了解清楚垂直传播在建立种子内生菌中的作用,有助于开发微生物菌剂应用于木本植物幼苗的生产与保护幼苗免受病虫害影响。但关于木本植物种子内生菌的垂直传播过程和机制,目前还知之甚少,需要进一步的深入研究。

4 木本植物种子内生菌的作用

4.1 有利作用

4.1.1 促进植物生长 木本植物种子内生菌能对宿主植物产生中性或有益的影响,在有益作用方面表现为促进植物生长。在木本植物中,种子传播的内生菌是母体提供的组成种子的重要部分,对种子的萌发、早期植物活力和幼苗存活率至关重要^[8]。Shearin等研究^[66]证明链格孢属、青霉菌属、茎点霉属等种子内生真菌对种子萌发和幼苗的生长具有显著的促进作用。在白蜡树^[20]、桉树^[23]、美国黄松^[15]、阿拉伯咖啡树^[28]和葡萄^[5]等木本植物种子中均发现有芽孢杆菌属,包含高地芽孢杆菌、简单芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌。芽孢杆菌是一种有益菌,它能分泌细胞分裂素,打破种子休眠,促进种子萌发,提高幼苗存活率;还能产生生长素促进幼苗根系生长和生物量的积累^[23, 57]。芽孢杆菌属还能通过产生1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)脱氨酶分解乙烯前体物ACC抑制植物乙烯的产生,降低乙烯浓度进而促进植物生长^[55]。Ferreira等从桉树种子中分离出的聚集泛菌33.1菌株、甲基杆菌属具有产生生长素刺激种子萌发和幼苗生长的作用,用聚集泛菌33.1菌株接种桉树种子,聚集泛菌主要定殖于植物根系,促进幼苗根系的伸长^[23]。同样,Donnarumma等研究^[20]发现白蜡树种子中的葡萄球菌属、微杆菌属也能产生生长素促进种子萌发和幼苗生长。泛菌属在有的报道中被认为是植物病原菌,但在白蜡树和美国矮松种子中发现其具有溶磷的作用,能促进植物生长,展现出有益的特性^[15, 20]。另外,

氮、磷等营养元素是植物生长所必需的营养元素,木本植物种子内生菌如芽孢杆菌属、假单胞菌属、伯克霍尔德菌能产生固氮酶、溶磷酶和铁载体促进植物对氮、磷、铁等营养元素的吸收,进而促进植物生长^[55, 57]。没有内生菌的种子不能正常萌发生长,幼苗根系缺乏向地心引力反应,不能向下生长到土壤或其他基质中,甚至可能向上生长、不产生根毛或产生稀疏或短的根毛^[58]。种子内生菌对于植物正常生长发育具有极其重要的作用。

4.1.2 生物防治 木本植物种子内生菌具有生物防治的作用,它们与植物其他部位的内生菌一样能够防控病虫害进而保护宿主植物。从挪威云杉、白蜡树、美国矮松种子中分离出的假单胞菌属、芽孢杆菌属、葡萄球菌属、泛菌属、微杆菌属等核心菌群具有防治病害的能力,保护苗木免受病害,避免被食草动物啃食,增强宿主植物在环境中的适应性^[5, 59-61]。存在于桉树种子中的甲基杆菌和聚集泛菌能控制植物疾病,在系统抗性方面具有一定的作用^[23]。在林业管理和农牧业发展中,大量的农药施用造成了严重的环境问题,木本植物种子内生菌能够产生抗生素^[58],抗生素在低浓度下能抑制包括病毒在内的微生物活性,人们呼吁使用新的抗生素和低毒的农药,减少对环境的伤害。内生菌是次生代谢产物的重要来源,木本植物种子内生菌通过产生某些次生代谢物,抑制有害病原菌生物活性,并且与其他微生物竞争种子中的营养物质与植物体内的生态位,进而保护植物免受入侵病原体的伤害^[62]。许多研究已经证明这种产物确实是种子内生菌产生的,而非宿主植物产生的,更能说明种子内生菌的这一功能。

农牧业上60%以上的抗生素是放线菌生产的,内生放线菌是产生生物活性物质和抗生素最多的微生物^[62],正被测试用于控制植物疾病。喜树种子内生放线菌能产生次生代谢产物喜树碱(camptothecin, CPT),对于宿主植物,喜树种子内生放线菌的次生代谢产物含有抗细菌活性成分,具有很强的抑制菌核形成的作用,能够抑制对宿主植物有害的细菌。喜树在长期进化选择中倾向于选择能够抑制有害病菌的微生物并与之共生^[22]。印度特有植物夹竹桃科的*Tabernaemontana heyneana* Wall., 它的种子内生菌镰刀菌、曲弗里弯孢霉、沃德霉属等产生的次生代谢产物天门冬酰胺酶(L-asparaginase),具有防治病虫害的作用,另外临床上天门冬酰胺酶具有抗癌潜力,利用高产的天门冬酰胺酶生产菌对于医学方面具有重要贡献^[32]。Qi等从茶条槭种子中分离出的链格孢属、茎点霉属、青霉菌属、镰刀菌属等内生菌能产生次生代谢产物没食子酸,其中拟茎点霉菌株产生没食子酸的含量和产量最高。链格孢属能产生生物活性物质生物碱苦马豆素,苦马豆素是抑制真菌黑斑病菌的物质,链格孢属真菌群落与黑斑病菌丰富度呈负相关^[39]。从茶条槭种子中分离到的内生真菌可作为没食子酸等生物活性化学物的产生菌,也可作为产生天然化合物的激发子。这项研究为工业上采用生物方法生产没食子酸提供了依据。从鸡爪槭种子中分离鉴定出了炭疽菌,炭疽菌能产生次生代谢产物炭疽酸,对细菌和真菌具有抗菌活性,并且产生对植物病原体具有抑菌作用的代谢物^[13, 18]。从挪威云杉、橡树、美国黄松种子中分离出的假单胞菌产生的假单胞菌素对多种植物病原真菌具有活性,假单胞菌素可被考虑用于生物防治^[15, 19, 21, 28]。在蒙地松种子中发现的白僵菌产生的挥发性物质能够有效地抑制和杀死某些其他真菌和细菌。木本植物种子内生菌产生的次生代谢产物对于抑制或杀死有害细菌、真菌和病毒,为生产实践生产生物杀虫剂

等提供重要思路^[63]。

4.2 有害作用

木本植物种子内生菌除了以上所说的有益作用外,种子中发现的病原菌如镰刀菌、腐霉、多孢链霉菌等具有降低种子活力、抑制种子萌发和引起植物病害等有害作用。在辐射松种子中发现的镰刀菌是引起松树沥青溃疡病的主要原因,镰刀菌会感染宿主植物的生殖器官,导致雌花死亡无法正常产生种子,造成种子产量降低,植物死亡率增高^[17]。Agusti-Brisach等在不影响种子萌发的前提下用53 °C热水处理辐射松种子^[17],热可以渗透种子控制内部感染,降低辐射松种子上镰刀菌的发生率,这是目前较好的去除病原菌的方法。在热带和温带树种中发现,潮湿环境中,腐霉引起种子和幼苗感染,造成种子和幼苗死亡,限制树种幼苗的补充^[64]。其原理是种子分泌物中的不饱和脂肪酸是种子萌发的诱导因子,腐霉菌丝对不饱和脂肪酸作出反应,菌丝膨胀萌发,种子不能萌发进而死亡。多孢链霉菌虽不会杀死种子但是会降低种子活力,导致种子出苗率低和幼苗生长不佳^[16]。Ridout等的研究^[26]中,播种前用多孢链霉菌菌液接种种子12 h,后续的研究发现最多的降低了30%的黄松种子出苗率。并且这类病原体在不同宿主中引起不同的病害^[65],但这种真菌是如何影响种子萌发的机制尚不清楚,我们只知道它对种子萌发和幼苗和生长不利。对于黄松种子,多孢链霉菌延迟种子发芽减少了幼苗对水分的竞争,这也许是其中一个原因^[26]。种子出苗和幼苗生长对林业苗圃和自然植物群落更新至关重要,病原菌降低种子出苗率对林业造成巨大的经济损失。但在Hodgson等的研究^[66]中,种子传播的内生菌被发现在植物表面而不是在种子组织内部。因此,除了对木本植物种子内生菌促生作用的研究外,在恢复森林生态方面对种子病原菌的研究同样非常重要。

5 总结与展望

目前绝大部分关于种子内生菌方面的研究都集中在水稻、玉米、小麦等农作物上,并有相关著作对其在农业方面的作用进行了系统全面的总结^[1, 9-10, 49, 59, 67]。而关于木本植物种子内生菌方面的研究相对较少,并且没有相关的总结性文章。因此,本文关于木本植物种子内生菌方面的总结,可为后续研究人员对木本植物种子内生菌的研究起到抛砖引玉的作用。

现阶段的研究对木本植物种子内生菌多样性信息挖掘不完全。常用于木本植物种子内生菌的研究方法有培养法和荧光原位标记法,培养法通过形态学、生理生化特征对分离菌

株进行鉴定获得多样性信息;荧光原位标记法使种子内生菌在植物体内的生态位可视化,确定其存在部位,这两种方法导致种子内生菌有很大一部分尚未被发掘^[5]。随着宏基因组技术的成熟,能对种子内生菌多样性以及功能进行分析,在鉴定丰富度较低的种子内生菌群落、挖掘功能基因资源方面具有优势。研究者可从分子水平上研究种子内生菌组成、定殖、垂直传播等,为木本植物种子内生菌提供更多的信息^[8]。也可利用基因工程技术操控内生菌有益特性,内生菌作为传递所需性状的载体,作用于木本植物种子,使有益特性可在宿主植物中表达^[23]。

另外,木本植物种子内生菌具有功能多样性,同一菌株对于不同宿主植物的作用机制可能不同。一些研究发现同种菌株处理不同的植物也会有不同的功能^[16]。例如假单胞菌通常被认为是植物和种子病原体,但在挪威云杉中表现为促进植物生长的作用^[19]。龙眼松种子中的镰刀菌属作为植物病原菌造成大量种子损失,而在茶条槭种子中镰刀菌属能产生没食子酸抵御外界微生物入侵保护植物健康^[16, 24]。因此,以后的研究需要深入探索木本植物种子内生菌与宿主植物的相互作用机制以及影响菌株功能差异化的因素。并且种子内生菌是种子自带的微生物群,不同微生物之间相互作用,共同发挥作用对植物产生影响。外源施加某种种子内生菌可能会与宿主植物本身具有的种子内生菌相互竞争,从而可能对种子萌发和幼苗生长产生意想不到的影响^[68]。所以研究者需要更全面地探索木本植物种子内生菌与宿主植物的相互作用,筛选并利用有益的种子内生菌,对增加种子活力、促进幼苗生长具有重要意义。

木本植物种子内生菌除产生生长激素、铁载体、固氮酶、ACC(1-氨基环丙烷-1-羧酸)脱氨酶等直接促进植物生长外,还能产生次生代谢物防治病虫害^[55, 57]。内生菌能产生和宿主植物一样的天然产物,甚至生产力更好,这对保护濒危稀有树种具有重要意义^[63, 69]。例如喜树种子内生放线菌能产生喜树碱,广泛应用于临床治疗肝癌、胃癌及白血病等疾病^[22]。桉树种子内生菌能产生次生代谢物没食子酸,没食子酸是一种天然酚类化合物,在工业上可用于染料制造、皮革制造和有机化合物生产^[70]。没食子酸在植物体中以缩酚酸的形式存在,但植物体中含量很低不能满足化工生产的需要,因此在木本植物中开发相关种子内生菌用于没食子酸生产具有重要的实际价值。综上所述,未来木本植物种子内生菌的研究方向可集中于种子内生菌的分离鉴定、种子内生菌对种子萌发和幼苗生长的作用、种子内生菌次生代谢产物的功能与生产实践应用等方面。

参考文献 [References]

- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF. Bacterial endophytes in agricultural crops [J]. *Can J Microbiol*, 1997, **43** (10): 895-914
- Sessitsch A, Reiter B, Pfeifer U. Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes-specific PCR of 16S rRNA genes [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2002, **39** (1): 23-32
- Bloomberg WJ. The occurrence of endophytic fungi in douglas-fir seedlings and seed [J]. *Can J Bot*, 1966, **4** (44): 413-420
- Pugh GJF, Buckley NG. Aureobasidium pullulans: an endophyte in sycamore and other trees [J]. *Trans Br Mycol Soc*. 1971, **57** (2): 227-231
- Compant S, Mitter B, Colli-Mull JG. Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization [J]. *Microb Ecol*, 2011, **1** (62): 188-197
- Nelson EB. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 2004, **1** (42): 271-309
- Saikkonen K, Wali P, Helander M, Faeth SH. Evolution of endophyte-plant symbioses [J]. *Trends Plant Sci*, 2004, **9** (6): 275-280
- Shahzad R, Khan AL, Bilal S, Asaf S, Lee IJ. What is there in

- seeds? vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth [J]. *Front Plant Sci*, 2018, **9** (2): 24-35
- 9 Andreozzi A, Prieto P, Mercado-Blanco J, Monaco S, Zampieri E, Romano S, Vale G, Defez R, Bianco C. Efficient colonization of the endophytes *Herbaspirillum huttiense* RCA24 and *Enterobacter cloacae* RCA25 influences the physiological parameters of *Oryza sativa* L. cv. Baldo rice [J]. *Environ Microbiol*, 2019, **21** (9): 3489-3504
 - 10 Loaces I, Ferrando L, Scavino AF. Dynamics, diversity and of endophytic siderophore-producing bacteria in rice [J]. *Microb Ecol*, 2011, **61** (3): 606-618
 - 11 Thanuja KG, Annadurai B, Thankappan S, Uthandi S. Non-rhizobial endophytic (NRE) yeasts assist nodulation of *Rhizobium* in root nodules of blackgram (*Vigna mungo* L.) [J]. *Arch Microbiol*, 2020, **202** (10): 2739-2749
 - 12 Fort T, Pauvert C, Zanne AE, Ovaskainen O, Caignard T, Barret M, Compant S, Hampe A, Delzon S, Vacher C. Maternal effects shape the seed mycobiome in *Quercus petraea* [J]. *New Phytol*, 2020, **230** (4): 1594-1608
 - 13 Franic I, Eschen R, Allan E, Hartmann M, Schneider S, Prospero S. Drivers of richness and community composition of fungal endophytes of tree seeds [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2020, **96** (9): 166-178
 - 14 Ganley RJ, Newcombe G. Fungal endophytes in seeds and needles of *Pinus monticola* [J]. *Mycol Res*, 2006, **110** (3): 318-327
 - 15 Satish KV, James FW. Seed Endophytes [M]. Varanasi: Springer Nature Switzerland AG, 2019
 - 16 De la Bastide PY, Leblanc J, Kong LS, Finston T, May EM, Reich R, Hintz WE, von Aderkas P. Fungal colonizers and seed loss in lodgepole pine orchards of British Columbia [J]. *Botany*, 2018, **97** (1): 23-33
 - 17 Agust-Brisach C, Prez-Sierra A, Armengol J, Garcia-Jimenez J, Berbegal M. Efficacy of hot water treatment to reduce the incidence of *Fusarium circinatum* on *Pinus radiata* seeds [J]. *Forestry*, 2012, **85** (5): 629-635
 - 18 Schulz B, Boyle C, Draeger S, Rommert AK, Krohn K. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites [J]. *Mycol Res*, 2002, **106** (9): 996-1004
 - 19 Cankar K, Kraigher H, Ravnkar M, Rupnik M. Bacterial endophytes from seeds of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst) [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, **244** (2): 341-345
 - 20 Donnarumma F, Capuana M, Vettori C, Petrini G, Giannini R, Indorato C, Mastromei G. Isolation and characterisation of bacterial colonies from seeds and in vitro cultures of *Fraxinus* spp. from Italian sites [J]. *Plant Biol (Stuttg)*, 2011, **13** (1): 169-176
 - 21 Abdelfattah A, Wisniewski M, Schena L, Tack AJM. Experimental evidence of microbial inheritance in plants and transmission routes from seed to phyllosphere and root [J]. *Environ Microbiol*, 2021, **23** (4): 2199-2214
 - 22 姚晓玲, 康前进, 熊顺子, 李芳, 王益, 林双君, 白林泉, 马伟, 邓子新. 喜树种子内生放线菌的分离鉴定及抗菌活性物质初分离[J]. 微生物学通报, 2014, **41** (6): 1109-1120 [Yao XL, Kang QJ, Xiong SZ, Li F, Wang Y, Lin SJ, Bai LQ, Ma W, Deng ZX. Isolation and identification of endophytic actinomycetes from the seeds of *Camptotheca acuminata* Decne. and isolation of antimicrobial substances from those endophytic actinomycetes [J]. *Microbial China*, 2014, **41** (6): 1109-1120]
 - 23 Ferreira A, Quecine MC, Lacava PT, Oda S, Azevedo JL, Araujo WL. Diversity of endophytic bacteria from *Eucalyptus* species seeds and colonization of seedlings by *Pantoea agglomerans* [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2008, **287** (1): 8-14
 - 24 Qi FH, Jing TZ, Wang ZX, Zhan YG. Fungal endophytes from *Acer ginnala* Maxim: isolation, identification and their yield of gallic acid [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2009, **49** (1): 98-104
 - 25 Jimu L, Kemler M, Wingfield MJ, Mwenje E, Roux J. The *Eucalyptus* stem canker pathogen *Teratosphaeria zuluensis* detected in seed samples [J]. *Forestry*, 2015, **89** (3): 316-324
 - 26 Ridout M, Newcombe G. *Sydowia polyspora* is both a foliar endophyte and a preemergent seed pathogen in *Pinus ponderosa* [J]. *Plant Dis*, 2018, **102** (3): 640-644
 - 27 Cleary M, Oskay F, Domu HT, Lehtijaervi A, Woodward S, Vettraino AM. Cryptic risks to forest biosecurity associated with the global movement of commercial seed [J]. *Forests*, 2019, **10** (5): 459
 - 28 Vega FE, Pava-Ripoll M, Posada F, Buyer JS. Endophytic bacteria in *Coffea arabica* L. [J]. *J Basic Microbiol*, 2005, **45** (5): 371-380
 - 29 Maehara S, Agusta A, Kitamura C, Ohashi K, Shibuya H. Composition of the endophytic filamentous fungi associated with *Cinchona ledgeriana* seeds and production of *Cinchona* alkaloids [J]. *J Nat Med*, 2016, **70** (2): 271-275
 - 30 Qi F, Jing T, Zhan YG. Characterization of endophytic fungi from *Acer ginnala* Maxim. in an artificial plantation: media effect and tissue-dependent variation [J]. *PLoS One*, 2012, **7** (10): 467-485
 - 31 Rahmawati N, Isfandito AR, Astuti DI, Aditiawati P. Endophytic fungi from Surian (*Toona sinensis* Roem) and antioxidant potency from its culture [J]. *Asian J Plant Sci*, 2015, **15** (1-2): 8-15
 - 32 Manasa C, Nalini MS. L-Asparaginase activity of fungal endophytes from *Tabernaemontana heyneana* Wall. (*Apocynaceae*), endemic to the Western Ghats (India) [J]. *Int Scholarly Res Not*, 2014, **2** (3): 1-7
 - 33 Storer AJ, Gordon TR, Clark SL. Association of the pitch canker fungus, *Fusarium subglutinans* f.sp. *pini*, with Monterey pine seeds and seedlings in California [J]. *Plant Pathol*, 1998, **47** (5): 649-656
 - 34 Decourcelle T, Piou D, Oustau MD. Detection of *Diplodia sapinea* in Corsican pine seeds [J]. *Plant Pathol*, 2015, **64** (2): 442-449
 - 35 Woods TAD, Farris SH, Sutherland JR. Penetration of Sitka spruce seeds by the pathogenic fungus *Caloscypha fulgens* [J]. *Can J Bot*, 1982, **60** (5): 544-548
 - 36 U'Ren JM, Dalling JW, Gallery RE, Maddison DR, Davis EC, Gibson C, Arnold AE. Diversity and evolutionary origins of fungi associated with seeds of a neotropical pioneer tree: a case study for analysing fungal environmental samples [J]. *Mycol Res*, 2009, **113** (4): 432-449
 - 37 U'Ren JM, Lutzoni F, Miadlikowska J, Zimmerman NB, Carbone I, May G, Arnold AE. Host availability drives distributions of fungal endophytes in the imperilled boreal realm [J]. *Nat Ecol Evol*, 2019, **3** (10): 1430-1437
 - 38 Harrison JG, Parchman TL, Cook D, Gardner DR, Forister M. A heritable symbiont and host-associated factors shape fungal endophyte communities across spatial scales [J]. *J Ecol*, 2018, **106** (6): 2274-2286
 - 39 Mccutcheon TL, Carroll GC, Schwab S. Genotypic diversity in populations of a fungal endophyte from Douglas Fir [J]. *Mycologia*, 1993, **85** (2): 180-186
 - 40 Christian N, Herre EA, Mejia LC, Clay K. Exposure to the leaf litter microbiome of healthy adults protects seedlings from pathogen damage [J]. *Proc Biol Sci*, 2017, **284** (1858): 641-653

- 41 Glassner H, Zchori-Fein E, Yaron S, Sessitsch A, Sauer U, Compant S. Bacterial niches inside seeds of *Cucumis melo* L. [J]. *Plant Soil*, 2018, **422** (1-2): 101-113
- 42 Nelson EB, Simoneau P, Barret M, Mitter B, Compant S. Editorial special issue: the soil, the seed, the microbes and the plant [J]. *Plant Soil*, 2018, **422** (1-2): 1-5
- 43 Farrer EC, Suding KN. Teasing apart plant community responses to N enrichment: the roles of resource limitation, competition and soil microbes [J]. *Ecol Lett*, 2016, **10** (19): 1287-1296
- 44 Rodríguez CE, Mitter B, Barret M, Sessitsch A, Compant S. Commentary: seed bacterial inhabitants and their routes of colonization [J]. *Plant Soil*, 2018, **422** (1-2): 129-134
- 45 Compant S, Reiter B, Sessitsch A, Nowak J, Clement C, Barka EA. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, **71** (4): 1685-1693
- 46 Philippot L, Raaijmakers JM, Lemanceau P, van der Putten WH. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2013, **11** (1): 789-799
- 47 Compant S, Clément C, Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization [J]. *Soil Biol Biochem*, 2009, **42** (5): 669-678
- 48 Compant S, Kaplan H, Sessitsch A, Nowak J, Barka EA, Clement C. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN: from the rhizosphere to inflorescence tissues [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2008, **63** (1): 84-93
- 49 Scott RI, Chard JM, Hocart MJ, Lennard JH, Graham DC. Penetration of potato tuber lenticels by bacteria in relation to biological control of blackleg disease [J]. *Potato Res*, 1996, **39** (3): 333-344
- 50 Roncato-Maccari LDB, Ramos HJO, Pedrosa FO, Alquini Y, Chubatsu LS, Yates MG, Rigo LU, Steffens MBR, Souza EM. Endophytic *Herbaspirillum seropedicae* expresses *nif* genes in gramineous plants [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2003, **45** (1): 39-47
- 51 Nelson EB. The seed microbiome: origins, interactions, and impacts [J]. *Plant Soil*, 2018, **422** (1-2): 7-34
- 52 童恩预. 松树是怎样“开花”结籽的[J]. 植物杂志. 1981, **41** (5): 16-17 [Tong EY. How does a pine tree “blossom” to seed [J]. *J Bot*, 1981, **41** (5): 16-17]
- 53 Witzell J, Martín JA. Advances in Endophytic Research [M]. Varanasi: Springer India, 2014
- 54 Rodriguez RJ, White JF, Arnold AE, Redman RS. Fungal endophytes: diversity and functional roles [J]. *New Phytol*, 2009, **182** (2): 314-330
- 55 Truyens S, Weyens N, Cuypers A, Vangronsveld J. Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants [J]. *Environ Microbiol Rep*, 2015, **7** (1): 40-50
- 56 Shearin ZRC, Filipek M, Desai R, Bickford WA, Kowalski KP, Clay K. Fungal endophytes from seeds of invasive, non-native *Phragmites australis* and their potential role in germination and seedling growth [J]. *Plant Soil*, 2018, **422** (1-2): 183-194
- 57 Kesaulya H, Hasinu JV, Tuhumury GN. Potential of *Bacillus* spp produces siderophores insuppressing thewilt disease of banana plants [J]. *IOP conference series*, 2018, **102** (1): 120-136
- 58 Verma SK, White JF. Indigenous endophytic seed bacteria promote seedling development and defend against fungal disease in browntop millet (*Urochloa ramosa* L.) [J]. *J Appl Microbiol*, 2017, **124** (3): 764-778
- 59 Pandey S, Ghosh PK, Ghosh S, De TK, Maiti TK. Role of heavy metal resistant *Ochrobactrum* sp. and *Bacillus* spp. strains in bioremediation of a rice cultivar and their PGPR like activities [J]. *J Microbiol*, 2013, **51** (1): 11-17
- 60 White JF, Kingsley KI, Kowalski KP, Irizarry I, Micci A, Soares MA, Bergen MS. Disease protection and allelopathic interactions of seed-transmitted endophytic pseudomonads of invasive reed grass (*Phragmites australis*) [J]. *Plant Soil*, 2018, **422** (1-2): 195-208
- 61 Wu L, Wu HJ, Qiao JQ, Gao XW, Borriss R. Novel routes for improving biocontrol activity of *Bacillus* based bioinoculants [J]. *Front Microbiol*, 2015, **6** (1): 1395-1401
- 62 朱文勇, 李洁, 赵国振, 黄海玉, 秦盛, 赵立兴, 徐丽华. 喜树内生放线菌多样性及抗菌活性评价[J]. 微生物学通报, 2010, **37** (2): 211-216 [Zhu WY, Li J, Zhao GZ, Huang HY, Qin S, Zhao LX, Xu LH. Diversity and antimicrobial activities of endophytic actinomycetes isolated from *Camptotheca acuminata* Decne. [J]. *Microbiol China*, 2010, **37** (2): 211-216]
- 63 Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, **67** (4): 491-502
- 64 Gómez-Aparicio L, Ibáñez B, Serrano MS, De Vita P, Avila JM, Perez-Ramos IM, Garcia LV, Esperanza SM, Maranon T. Spatial patterns of soil pathogens in declining Mediterranean forests: implications for tree species regeneration [J]. *New phytol*, 2012, **194** (4): 1014-1024
- 65 Ogoshi A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1987, **25** (1): 125-143
- 66 Hodgson S, Cates CD, Hodgson J, Morley NJ, Sutton BC, Gange AC. Vertical transmission of fungal endophytes is widespread in forbsn [J]. *Ecol Evol*, 2014, **4** (1): 1199-1208
- 67 Chandra P, Singh E, Singh R. Agriculturally Important Fungi for Sustainable Agriculture [M]. Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2020
- 68 Rybakova D, Mancinelli R, Wikstr MM, Birch-Jensen AS, Postma J, Ehlers RU, Goertz S, Berg G. The structure of the Brassica napus seed microbiome is cultivar-dependent and affects the interactions of symbionts and pathogens [J]. *Microbiome*, 2017, **5** (1): 104
- 69 叶如梦, 田锴, 胡海静, 万鹏伟, 谭海霞, 田兴军, 李朋富. 一株枯草芽孢杆菌对香蜂花的促生效果及关键代谢物积累的环境响应[J]. 应用与环境生物学报, 2020, **26** (5): 1035-1045 [Ye RM, Tian K, Hu HJ, Wan PW, Tan HX, Tian XJ, Li PF. Prompting effects of an endophytic bacteria, *Bacillus subtilis*, on *Melissa officinalis* L. growth and response of its central secondary metabolic products to culturing conditions [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2020, **26** (5): 1035-1045]
- 70 冯立娟, 尹燕雷, 招雪晴, 王长君. 石榴没食子酸代谢与保健功能研究进展[J]. 果树学报, 2014, **31** (4): 710-716 [Feng LJ, Yin YL, Zhao XQ, Wang CJ. Research progress on metabolism and health function of gallic acid in pomegranate [J]. *J Fruit Sci*, 2014, **31** (4): 710-716]