

doi:10.13866/j.azr.2018.02.11

# 叶圈微生物的群落结构与生态功能研究进展<sup>①</sup>

刘燕<sup>1,2</sup>, 徐志才<sup>1,2,3</sup>, 唐立松<sup>1</sup>,

(1. 中国科学院新疆生态与地理研究所, 荒漠与绿洲生态国家重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011;  
2. 中国科学院阜康荒漠生态系统国家野外科学观测研究站, 新疆 阜康 831505; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 植物叶圈和根际是两个独特、复杂的生态系统, 含有丰富的微生物种类, 在促进植物生长, 增强植物抗病性、抗逆性等方面有着非常重要的作用。在近几年内的研究中, 根际一直是微生物学家和植物学家研究和关注的焦点, 特别是在根际微生物促进植物生长和增强植物抗病性的效果和机理方面取得了重要的研究进展。相对而言, 对于叶圈微生物的研究远远滞后于对根际微生物的研究。叶圈微生物最初主要是对植物致病微生物进行研究, 但是由于技术条件(主要是采用传统可培养方法进行研究)的限制, 叶圈微生物研究进展缓慢。2000年以后, 随分子生物学技术的发展, 特别是高通量测序技术的发展, 叶圈微生物研究进入了快速发展阶段。研究发现, 叶圈微生物中只有少数致病, 而大多数能够为植物提供养分、促进植物生长、提高植物抗病性和抗逆性, 在植物群落组成和生态功能方面发挥了重要作用。通过介绍叶圈定义的提出及发展过程, 阐述了叶圈微生物在研究方法、生物学功能及作用机理方面的研究进展, 并对叶圈微生物未来发展方向进行了展望。

**关键词:** 叶圈; 微生物; 群落结构; 内生菌; 外生菌; 生物固氮

叶圈(Phyllosphere)微生物是植物生态系统的重要组成部分, 其组成主要包括细菌、真菌和酵母菌等。它们有的生活在植物表面(外生菌, Epiphyte), 有的生活在植物组织内部(内生菌, Endophyte), 不可避免的与植物发生着相互作用(如寄生、互惠互利、致病等)。相对于根际而言, 叶圈环境的养分缺乏, 紫外线辐射强烈, 温、湿度变化巨大, 尤其是在荒漠地区, 这种情况更加明显。尽管环境条件如此恶劣, 但是叶圈微生物的群落组成依然十分丰富, 如叶表面细菌数量高达  $10^7$  cells · cm<sup>-2</sup><sup>[1]</sup>, 酵母菌数量高达 500 cells · cm<sup>-2</sup><sup>[2]</sup>。

20世纪50年代中期, 微生物学家和植物病理学家希望了解病原微生物是如何影响植物的正常生长, 开始关注植物叶片及地上部微生物组成, 第一次提出了叶圈的概念: 即微生物生活的叶外表面环境<sup>[3]</sup>。但由于大多数微生物是难以培养的, 限制了对叶圈微生物生物学特性及生态功能的研究, 因此进展相当缓慢。近几十年来, 随着分子生物学技术的不断发展, 许多难以培养的微生物可以通过测序的方式被发现和鉴定, 这为研究植物与微生物之间

的关系提供了新的机遇。大量研究表明, 叶圈微生物种类丰富, 数量巨大, 能够促进植物生长、增强植物抗逆性、抗病性等<sup>[4]</sup>, 是植物生态系统的重要组成部分, 对生态系统的稳定与功能发挥着关键作用。本文从叶圈概念的提出与发展、叶圈微生物群落的组成及生态功能等几个方面进行综述, 并探讨当前叶圈微生物研究中存在的一些问题。

## 1 叶圈概念的提出与发展

1955年, 植物病理学家 Last 在研究小麦和大麦叶片上“粉红酵母菌”(Sporobolomyces)丰度的季节性变化, 评估其与白粉菌(Erysiphe graminis)感染关系时提出了叶圈的概念, 并认为叶圈是一个拥有复杂微生物群落的叶片外表面环境<sup>[3]</sup>。1961年, 微生物学家 Ruinen 在研究植物叶片生理老化过程中微生物群落结构变化时, 将叶圈与根际类比<sup>[5]</sup>, 于5a之后专文给出了“叶圈”的定义—微生物生活的叶外表面环境<sup>[6]</sup>。

由于植物地上部分表面和组织内部之间并不存在着明显的边界, 其原有孔隙(如气孔、排水器)是

① 收稿日期: 2017-12-19; 修订日期: 2018-01-09

基金项目: 国家自然科学基金(41671051); 国家自然科学基金(41671114)共同资助

作者简介: 刘燕(1980-), 女, 硕士, 主要研究方向为土壤微生物与植物养分循环, E-mail: liuyan@ms.xjb.ac.cn

通讯作者: 唐立松, E-mail: tangls@ms.xjb.ac.cn

外生菌和内生菌之间的主要通道,连通了外部和内部环境。因此, Morris<sup>[7]</sup>将植物叶片表面和内部统称为叶圈,并将叶圈看作是一个向外延伸到植物叶片一大气边界层,向内延伸到植物叶片组织内部的连续体。Lindow 等<sup>[1]</sup>进一步认为,叶、茎、花、果等植物的地上部分,其外界环境条件大致相同,不同器官与组织之间又通过孔隙形成一个连续的整体,因此将植物地上部分统称为叶圈,并进一步将叶圈划分为茎际 (caulosphere)、叶际 (phylloplane)、花际 (anthosphere) 和果际 (carposphere)。2015 年, Doan 和 Leveau<sup>[8]</sup>为了更好的把叶片运用到模型中去,将叶片划分为两个紧密相连但又明显不同的部分:叶表面陆地部分 (phylloplane) 和叶表面水域部分 (phyllolema),并将所有与角质层相关的微生物统称为叶圈微生物。

由此可见,随着研究内容的扩展,叶圈的概念也有了进一步的发展,所涉及的范围,不再局限于叶片本身,还扩展到了植物的内部。对于叶圈概念理解,应该认识到其范围实际上包括了植物整个的地上部,定殖于植物地上部的所有微生物,无论存在于表层或者内部,都属于叶圈微生物。因此,本文中的叶圈概念,其范畴如上所述。

## 2 叶圈微生物 - 外生菌与内生菌

如前所述,微生物不仅可以定殖于植物表面,而且可以利用多种通道定殖于植物组织内部。因此,根据定殖部位的不同,叶圈微生物又可以划分为外生菌 (Epiphyte) 和内生菌 (Endophyte)。

外生菌存在于植物地上部表面 (包括叶、茎、花、果等),这里是植物与大气之间的界面,受到植物和大气环境的双重影响。它们生长需要的水分主要从大气中获得,植物地上部的分泌物和渗出物则提供了其生命活动所需的碳、氮以及矿物质元素。从已有的研究来看,外生微生物的研究主要集中于植物的叶片表面。一方面,由于历史的延续,最早的植物表面微生物研究始于叶片。另一方面,叶片是植物地上部最活跃的部分,主导着植物与大气之间的物质与能量交换,而且具有巨大的比表面积,是地球上微生物最大的栖息地之一。全球植物叶片表面积约为 508 630 100 km<sup>2</sup>,当考虑到叶片上下表面时,叶表面积达到了 1 017 260 200 km<sup>2</sup>,是地球表面面积的 2 倍<sup>[9]</sup>。

叶表环境条件通常比较恶劣,尤其是在干旱半干旱地区,这些定殖于叶表面的微生物不仅要忍受水分和营养物质的极度缺乏,还要抵抗强烈的紫外线辐射和剧烈的温度、湿度变化<sup>[10-11]</sup>。同时,环境条件的剧烈变化及资源的异质性,又极大地提高了微生物的多样性,其群落组成十分丰富<sup>[1,12]</sup>。对其群落组成与植物宿主种类、时间和空间等因素之间关系的研究表明,微生物的群落组成与植物物种有着显著的关系<sup>[12-13]</sup>,并且不是随机的,而是自然选择的结果<sup>[13-15]</sup>。

内生菌一词最早是由德国科学家 DeBary 于 1866 年提出的,是指生活在植物组织内部的微生物,用以区分生活在植物表面的微生物。随着相关研究的深入,进一步明确了内生菌并不包含致病菌和菌根菌,它们生活在植物组织的内部,但并不引起明显的病害症状,而是与植物维持着互惠共生的关系<sup>[16]</sup>。Petri<sup>[17]</sup>和 Wilson<sup>[18]</sup>认为,内生菌是指一生或至少一生中的某个阶段能进入活体植物组织内部,并在植物组织内不引起明显病害症状的微生物。在早期的研究中,内生菌都指内生真菌。1992 年, Kloepper 等<sup>[19]</sup>首次提出"内生细菌"的概念,并将植物内生菌定义为"定殖在植物细胞间隙或细胞内,并能与宿主植物和谐相处的一类微生物",既包括内生真菌又包括内生细菌。

内生菌广泛存在于地球上 3.0 × 10<sup>5</sup> 万种植物中<sup>[20]</sup>,分布于根、茎、叶、花、果实和种子等器官组织的细胞或细胞间隙中,其种类和数量都十分巨大,并与植物种类密切相关。据估计,全球植物内生真菌的种类超过 1.0 × 10<sup>6</sup> 万种,但专属于某一种宿主的专性内生真菌仅有 4 ~ 5 种<sup>[17]</sup>。此外,在植物组织内部,不仅定殖有大量的真菌,还定殖有丰富的细菌,这些由细菌和真菌构成的复杂的微生物群落均属于内生菌范畴。

## 3 叶圈微生物的主要研究方法

### 3.1 传统的培养 (Culture-dependent) 方法

传统微生物学研究方法主要依赖于培养技术和显微技术,即采用选择性培养基对微生物进行培养、分离、纯化得到纯菌株。然后,根据经典形态学方法以及菌株的生理生化特性对菌株进行鉴定或采用 16S rRNA 和 18S rRNA 分子生物学手段测序之后进行鉴定,进而了解微生物的群落组成及功能。这种

方法在分离具有一定特殊功能的目标物种方面具有广泛的应用。但由于绝大多数微生物是难以培养的,分离鉴定得到的微生物只占其总数的 1% ~ 10%,因此,通过该方法只能得到微生物群落信息的极小部分<sup>[18]</sup>,具有选择性且不能完全反映微生物群落的真实情况<sup>[21]</sup>。

### 3.2 Biolog 微孔板 (micro plate) 法

与传统分离培养法相比,Biolog 的原理是基于微生物对碳源利用程度的大小,通过测定同一平板上微生物对不同单一碳源的利用能力来鉴定纯种微生物或比较分析不同的微生物群落。该方法无需分离培养微生物,可最大限度地保留原有微生物群落代谢特征<sup>[22]</sup>,具有测定简便,灵敏度高的优点。但所得出的微生物类群主要是革兰氏阴性菌,对适合在实验条件下生长的小部分微生物具有强烈的选择性,培养条件的要求较高,湿度、渗透压、pH 等方面的改变,都可能改变微生物对单一碳源的利用能力。

### 3.3 生物化学方法—PLFA (磷脂脂肪酸) 分析

利用磷脂脂肪酸图谱分析 (PLFA),避开了传统微生物培养分析的环节,可以确定活体微生物的生物量和包括不可培养微生物在内的微生物群落组成<sup>[23]</sup>。该方法具有较高的准确性、稳定性和敏感性。但仍然不能完全反映完整的微生物群落构成,并且不能用于古菌分析<sup>[24-25]</sup>。

### 3.4 分子生物学方法

近年来,随着基因测序技术的快速发展,特别是高通量测序等<sup>[26]</sup>技术手段的出现,使得微生物学研究的难度和成本大大降低。与传统分离培养方法不同,现代分子生物学技术避开了对微生物进行分离培养的环节,直接从样品中提取微生物的核酸 (DNA 或 RNA),将所提取的 DNA 目标片段进行 PCR 扩增后,通过指纹图谱、微阵列 (microarray) 和高通量测序等技术手段来分析微生物组成和多样性。同时,微生物的功能基因也可用于功能微生物的多样性分析,如氢氧化细菌的 *amoA* 基因 (氨单加氧酶),固氮细菌的 *nifH* 基因等。

近年来,新一代高通量测序技术极大地推动了微生物多样性研究的发展。该方法一次可以得到几万至几百万条序列,效率高,测序的广度和深度大大提高。目前,常用于微生物多样性分析的测序方法主要有两种,即 Roche Inc 公司的 454 焦磷酸测序和 Illumina Inc 公司的 Miseq/Hiseq 测序。这两种高通量测序方法均是通过在每个样品的引物上加标签来

识别不同的序列,可以同时分析多个样品。

## 4 叶圈微生物的生态功能

传统观点认为,固氮菌只有在豆科植物根瘤内才能进行固氮作用。1975 年,Doberiner 和 Day 从非豆科植物甘蔗体内分离到固氮螺菌 (*Azospirillum*) 菌株之后,使得非豆科植物固氮引起了人们的广泛关注<sup>[27-28]</sup>。此后,在玉米 (*Zay mays*)<sup>[29]</sup>、水稻 (*Oryza sativa*)<sup>[30]</sup>、卡拉草 (*Leptochlor fusca*)<sup>[31]</sup> 等植物中也发现了内生固氮细菌的存在。Doty 等<sup>[32]</sup> 发现,野生杨树的叶圈固氮菌能够为野生杨树提供丰富的氮素,促进其生长。而且在氮限制的条件下,接种了野生杨树和柳树的内生固氮菌,还能够促进水稻的生长<sup>[33]</sup>。王卫霞<sup>[34]</sup> 采用培养实验,从荒漠植物多枝怪柳 (*Tamarix ramosissima*)、黑果枸杞 (*Lycium ruthenicum*) 的根和茎中分离筛选出了固氮活性高、溶磷能力强,具有多种促生性能的内生固氮菌株。杨艳凤<sup>[35]</sup> 对荒漠灌木怪柳茎流中总氮浓度的研究发现,其是雨水总氮浓度的 10 ~ 20 倍,间接提供了固氮菌存在的证据。微生物在适宜的条件下,可以持续不断地固氮,然后直接被植物叶片吸收或者随雨水淋溶形成茎流进入植物根区,供植物根系吸收利用<sup>[36-39]</sup>。

叶圈微生物在植物病害防治方面具有重要的作用,同时也是其研究的主流方向。Chen 等<sup>[40]</sup> 采用从棉花分离到的内生细菌接种棉花,可以有效减轻棉花枯萎症状;袁军等<sup>[41]</sup> 从马铃薯块茎中分离到的 40 株内生细菌可以很好的抵御马铃薯环腐病;Rangeshwaran 等<sup>[42]</sup> 从鹰嘴豆、向日葵、辣椒茎内分离到 25 株不同的内生细菌,其中 10 株对镰刀菌、菌核菌、丝核菌有明显抑制作用。易龙等<sup>[43]</sup> 从健康烟草的叶、茎中分离到 302 株非病原内生细菌,筛选出对烟草赤星病菌有拮抗作用的 11 个菌株,其中内生菌株 Itb162 对烟草赤星病的抗病效率高达 52%。

叶圈微生物还能够缓解逆境对植物的胁迫作用。Rico 等<sup>[44]</sup> 研究发现,固氮细菌的丰度随着干旱胁迫的增强而增加,进而推断固氮细菌可能会增强植物对干旱环境条件的适应能力。Rho 等<sup>[45]</sup> 通过 meta 分析发现,在干旱、氮缺乏和高盐的情况下,内生细菌能够缓解干旱、氮缺乏和高盐环境对宿主植物的胁迫。Yang 等<sup>[46]</sup> 研究发现,接种摩西球囊霉菌 (*Funneliformis mosseae*) 能够增强胡杨幼株的抗旱

能力。

各种接种实验表明,叶圈微生物在促进植物生长方面也具有较好的作用。Knoth 等<sup>[47]</sup>用从野生杨树分离得到的固氮内生细菌回接杨树,发现能够促进野生杨树的生物量积累,并且多菌种接种比单一菌种接种的促生效果更加明显。Rho 等<sup>[48]</sup>发现,内生固氮菌能够增强植物光合作用和提高植物水分利用效率,从而促进植物生长。Santosa 等<sup>[49]</sup>用从水稻叶表面分离到的促生细菌接种水稻,能够增加水稻的株高、地上部生物量和根部生物量。Chinnadurai 等<sup>[50]</sup>从水稻叶表分离到能够产生 ACC 脱氢酶(1-氨基环丙烷-1-羧酸,1-aminocyclopropane-1-carboxylate)的甲基营养型菌株,能够抑制乙烯的形成,延缓植物衰老,促进植物生长。

叶圈微生物增强植物抗性和促进植物生长的机制主要包括以下几个方面:

(1)产生抗菌物质。如从柑橘枝条组织内分离到的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)产生的抑菌物质—fengycin 同系物,能够抑制油菜菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*)的发生<sup>[51]</sup>。

(2)与病原菌竞争生态位和营养物质。如从玉米体内分离的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)与串珠镰孢菌(*Fusarium moniliforme*)具有相同的生态位,并且能在玉米体内迅速定殖,从而有效地抑制串珠镰孢菌生长及其毒素的积累<sup>[52]</sup>。

(3)诱导植物生理改变。如微生物群体通过产生激素类化合物,诱导植物生理改变来间接抵御病原菌的作用<sup>[53]</sup>。

## 5 结论及展望

叶圈作为地球上独特的生态环境,拥有着丰富的微生物多样性,对于维持生态系统的稳定性起着不可替代的作用。经过 60 多年的研究,取得了许多重要的进展,如非豆科植物普遍定殖有固氮菌,叶圈微生物能够提高植物的抗病性,并能够促进植物生长。但由于叶圈微生物的多样性和其生存环境的特殊性,目前对于叶圈微生物的认识还非常有限,一些基本概念的定义与范畴仍然处于发展变化中。

首先,经过多年的发展,叶圈的定义及范畴都有了极大的拓展,虽然可以继续沿用已有的名词,但必须清楚地认识到,它实际上是植物地上部的总和。其次,虽然近年来分子生物学和高通量测序技术的

高速发展,为更好地了解叶圈微生物的组成与多样性提供了可能,但对其生物学特性与生态功能还有待进一步认识。第三,当前对于叶圈微生物的研究,大多数集中于水热条件较好的湿润区半湿润区。对极端环境条件(如高温干旱、高盐高碱、养分贫瘠、强辐射等)下的叶圈微生物研究相对较少。加强此类研究将有助于深入理解叶圈微生物的生物学特性与生态功能,并揭示其地理学分布规律。

## 参考文献(References):

- [1] Lindow S E, Brandl M T. Microbiology of the phyllosphere[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(4): 1 875 - 1 883.
- [2] Inácio J, Ludwig W, Spencer-Martins I, et al. Assessment of phylloplane yeasts on selected Mediterranean plants by FISH with group- and species-specific oligonucleotide probes[J]. Fems Microbiology Ecology, 2010, 71(1): 61 - 72.
- [3] Last F T. Seasonal incidence of sporobolomyces on cereal leaves [J]. Transactions of the British Mycological Society, 1955, 38(3): 221 - 239.
- [4] Sandhu A, Halverson L J, Beattie G A. Bacterial degradation of airborne phenol in the phyllosphere[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(2): 383 - 392.
- [5] Ruinen J. Occurrence of *Beijerinckia* Species in the 'Phyllosphere' [J]. Nature, 1956, 177(4 501): 220 - 221.
- [6] Ruinen J. The phyllosphere: I. an ecologically neglected milieu [J]. Plant and Soil, 1961, 15(2): 81 - 109.
- [7] Morris C E. Phyllosphere[M]. New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd, 2002.
- [8] Doan H K, Leveau J H. Artificial Surfaces in phyllosphere microbiology[J]. Phytopathology, 2015, 105(8): 1 036 - 1 042.
- [9] Woodward F I, Lomas M R. Vegetation dynamics-simulating responses to climatic change[J]. Biological Reviews, 2004, 79(3): 643 - 670.
- [10] Beattie G A, Lindow S E. Bacterial colonization of leaves: A spectrum of strategies[J]. Phytopathology, 1999, 89(5): 353 - 359.
- [11] Kadivar H, Stapleton A E. Ultraviolet radiation alters maize phyllosphere bacterial diversity [J]. Microbial Ecology, 2003, 45(4): 353 - 361.
- [12] 任改弟. 水稻叶圈和根圈微生物对大气 CO<sub>2</sub> 浓度和土壤温度升高的响应[D]. 北京: 中国科学院大学, 2013. [Ren Gaidi. Response of leaf-and root-associated microbial communities of rice to elevated CO<sub>2</sub> and soil temperature [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2013.]
- [13] Whipps J M, Hand P, Pink D, et al. Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype [J]. Journal of Applied Microbiology, 2008, 105(6): 1 744 - 1 755.
- [14] Redford A J, Fierer N. Bacterial succession on the leaf surface: A novel system for studying successional dynamics [J]. Microbial E-

- cology, 2009, 58(1): 189 – 198.
- [15] Finkel O M, Burch A Y, Lindow S E, et al. Geographical Location Determines the population structure in phyllosphere microbial communities of a salt-excreting desert tree [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(21): 7 647 – 7 655.
- [16] Debary A, Woronin M, Rothrock J T. Beitrage zur morphologie und physiologie der pilze [J]. Botanical Gazette, 7(7): 81 – 84.
- [17] Petrini O. Fungal Endophytes of Tree Leaves [M]. New York; Springer Science + Business Media, 1991.
- [18] Wilson D. Endophyte: The evolution of a term, and clarification of its use and definition [J]. Oikos, 1995, 73(2): 274 – 276.
- [19] Kloepper J W, Schippers B, Bakker P. Proposed elimination of the term endorhizosphere [J]. Phytopathology, 1992, 82(7): 726 – 727.
- [20] Strobel G, Daisy B, Castillo U, et al. Natural Products from Endophytic Microorganisms [J]. Journal of Natural Products, 2004, 67(2): 257 – 268.
- [21] White D C, Pinkart H, Ringelberg D. Biomass Measurements: Biochemical Approaches [M]. Washington; ASM Press, 1997.
- [22] Hawksworth D L. The fungal dimension of biodiversity: Magnitude, significance, and conservation [J]. Mycological Research, 1991, 95(6): 641 – 655.
- [23] Tsui C K M, Leung Y M, Hyde K D, et al. Three new ophioceras, species (ascomycetes) from the tropics [J]. Mycoscience, 2001, 42(4): 321 – 326.
- [24] Elsas G f, Rosado A S, Smalla K, et al. Microbiological and molecular biological methods for monitoring microbial inoculants and their effects in the soil environment [J]. Journal of Microbiological Methods, 1998, 32(2): 133 – 154.
- [25] Sundh I, Nilsson M, Borga P. Variation in microbial community structure in two boreal peatlands as determined by analysis of phospholipid Fatty Acid profiles [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(4): 1 476 – 1 482.
- [26] Zimmerman N, Izard J, Klatt C, et al. The unseen world: Environmental microbial sequencing and identification methods for ecologists [J]. Frontiers in Ecology & the Environment, 2016, 12(4): 224 – 231.
- [27] Azevedo J L, Maccheroni Jr W, Pereira J O, et al. Endophytic microorganisms: A review on insect control and recent advances on tropical plants [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2000, 3(1): 40 – 65.
- [28] Cavalcante V A, Dobereiner J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane [J]. Plant and Soil, 1988, 108(1): 23 – 31.
- [29] Palus J A, Borneman J, Ludden P W, et al. A diazotrophic bacterial endophyte isolated from stems of *Zea mays* Linn and *Zea luxurians* iltis and Doebley [J]. Plant and Soil, 1996, 186(1): 135 – 142.
- [30] Barraquio W L, Revilla L, Ladha J K. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice [J]. Plant and Soil, 1997, 194(1/2): 15 – 24.
- [31] Hurek T, Reinhold-Hurek B. *Azoarcus* sp. strain BH72 as a model for nitrogen-fixing grass endophytes [J]. Journal of Biotechnology, 2003, 106(2/3): 169 – 178.
- [32] Doty S L, Sher A W, Fleck N D, et al. Variable Nitrogen Fixation in Wild Populus [J]. Plos One, 2016, 11(5): e0 155 979.
- [33] Kandel S L, Herschberger N, Kim S H, et al. Diazotrophic endophytes of poplar and willow for growth promotion of rice plants in nitrogen-limited conditions [J]. Crop Science, 2015, 55(4): 1 765 – 1 772.
- [34] 王卫霞. 新疆几种典型荒漠植物根际微生物特征及内生固氮菌的分离、促生性能研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2009. [Wang Weixia. The Characteristics of Rhizosphere Microorganisms, Isolation and Analysis their Activity for Plant Growth-Promoting of Endophytic Diazotrophic Bacteria from Typical Desert Plants in Xinjiang [D]. Urumqi: Xinjiang Agriculture University, 2009.]
- [35] 杨艳凤. 3种荒漠灌木(梭梭、怪柳、沙拐枣)的树干径流特征 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2011. [Yang Yanfeng. Stem flow in three Desert Shrubs: *Haloxylon ammodendron*, *Tamarix chinensis* and *Calligonium* [D]. Beijing: Graduate University of Chinese Academy of Sciences, 2011.]
- [36] Ruinen J. The Phyllosphere; III. nitrogen fixation in the Phyllosphere [J]. Plant and Soil, 1965, 22(3): 375 – 394.
- [37] Jones K. Nitrogen fixation in the phyllosphere of the Douglas Fir, *Pseudotsuga douglasii* [J]. Annals of Botany, 1970, 34(134): 239 – 244.
- [38] Fűrnkranz M, Wanek W, Richter A, et al. Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica [J]. Isme Journal, 2008, 2(5): 561 – 570.
- [39] Abril A B, Torres P A, Bucher E H. The importance of phyllosphere microbial populations in nitrogen cycling in the Chaco semi-arid woodland [J]. Journal of Tropical Ecology, 2005, 21(1): 103 – 107.
- [40] Chen C, Bauske E M, Rodriguez-Kabana R, et al. Biological control of fusarium wilt on cotton by use of endophytic bacteria [J]. Biological Control, 1995, 5(1): 83 – 91.
- [41] 袁军, 孙福在, 田宏先, 等. 防治马铃薯环腐病有益内生细菌的分离和筛选 [J]. 微生物学报, 2002, 42(3): 270 – 274. [Yuan Jun, Sun Fuzai, Tian Hongxian, et al. Isolation and screening of Beneficial Endophytic Bacteria for the prevention and treatment of potato ring rot [J]. Acta Microbiologica Sinica. 2002, 42(3): 270 – 274.]
- [42] Rangeshwaran R, Wasnikar A R, Prasad R D, et al. Isolation of endophytic bacteria for biological control of wilt pathogens [J]. Journal of Biological control, 2002, 16(2): 125 – 134.
- [43] 易龙, 肖崇刚, 马冠华, 等. 防治烟草赤星病有益内生细菌的筛选及抑菌作用 [J]. 微生物学报, 2004, 44(1): 19 – 22. [Yi Long, Xiao Chonggang, Ma Guanhua, et al. Inhibition and screening of beneficial endophytic bacteria to control tobacco brown spot [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2004, 44(1): 19 – 22.]
- [44] Rico L, Ogaya R, Terradas J, et al. Community structures of N<sub>2</sub>-fix-

- ing bacteria associated with the phyllosphere of a Holm oak forest and their response to drought[J]. *Plant Biology*, 2014, 16(3):586 – 593.
- [45] Rho H, Hsieh M, Kandel S L, et al. Do endophytes promote growth of host plants under stress? A meta-analysis on plant stress mitigation by endophytes[J]. *Microbial Ecology*, 2017, 75(2):407 – 418.
- [46] Yang Y, Chen Y, Li W, et al. Inoculation of funneliformis mosseae to enhance desiccation tolerance of *Populus euphratica* seedlings in hyper-arid region[J]. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2017, 19(5):983 – 991.
- [47] Knoth J L, Kim S H, Ettl G J, et al. Biological nitrogen fixation and biomass accumulation within poplar clones as a result of inoculations with diazotrophic endophyte consortia[J]. *New Phytologist*, 2014, 201(2):599 – 609.
- [48] Rho H, Kim S H. Endophyte Effects on Photosynthesis and Water Use of Plant Hosts: A Meta-Analysis[M]. Berlin: Springer, 2017.
- [49] Santosa D A, Handayani N, Iswandi A. Isolation and selection of growth promoting phyllosphere bacteria from leaf of rice (*Oryza sativa* Linn.) cultivar IR – 64[J]. *Jurnal Tanah dan Lingkungan*, 2003, 5(1):7 – 21.
- [50] Chinnadurai C, Balachandar D, Sundaram S P. Characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase producing methyl-obacteria from phyllosphere of rice and their role in ethylene regulation[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2009, 25(8):1403 – 1411.
- [51] 张翼. 柑橘内生细菌 YS45 的抗菌物质及该菌对油菜菌核病的生物防治作用[D]. 上海:复旦大学, 2008. [Zhang Yi. Screening of Antagonistic Endophytic Bacterium in Citrus and Species Identification of the Endophytic Bacteria Isolate YS45[D]. Shanghai: Fudan University, 2008.]
- [52] Bacon C W, Yates I E, Hinton D M, et al. Biological control of fusarium moniliforme in Maize[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2001, 109(Suppl. 2):325 – 332.
- [53] Leben C. Epiphytic microorganisms in relation to plant disease [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1965, 3(1):209 – 230.

## Research Progress of Community Structure and Ecological Functions of Phyllosphere Microorganisms

LIU Yan<sup>1,2</sup>, XU Zhi-cai<sup>1,2,3</sup>, TANG Li-song<sup>1</sup>

( 1. State Key Laboratory of Desert and Oasis Ecology, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, Xinjiang, China; 2. Fukang State Station for Desert Ecosystem Observation and Research, Chinese Academy of Sciences, Fukang 831505, Xinjiang, China; University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China )

**Abstract:** Phyllosphere and rhizosphere of plants are two unique and complex ecosystems with rich microbial components, and play an important role in promoting plant growth, enhancing plant disease resistance and stress resistance. Over the past decades, rhizosphere attracted many microbiologists and botanists, especially some research progresses were achieved at the aspects of rhizospheric microorganisms in promoting plant growth and enhancing the effect and mechanism of plant disease resistance. Comparatively speaking, the study on phyllosphere microorganisms was much more behind that on rhizospheric microorganisms. Initially, the study on phyllosphere microorganisms was focused on plant pathogenic microorganisms, so the progress of researching phyllosphere microorganisms was slow due to the limitation of technical conditions. The research on phyllosphere microorganisms was developed rapidly since the 21st century along with the development of molecular biological technique, especially the application of high-throughput sequencing technology. Recently, numerous studies proved that only a few of phyllosphere microorganisms were pathogenic, and most of them benefited plants by improving nutrients, promoting plant growth, and improving disease and stress resistance, thus a very important role of structuring plant communities and sustaining their functions was played. The objectives of this review are as follows: ① To introduce the definition of phyllosphere and the development of the methodology related to phyllosphere microorganisms as well as their biological functions and mechanisms; and ② To provide future perspectives in understanding microorganisms.

**Key words:** phyllosphere; microorganism; community structure; endophyte; epiphyte; biological nitrogen fixation