

森林中的隱形小幫手——林木內共生細菌與林木健康

◎行政院農業委員會林業試驗所育林組・林冠穎 (louises@tfri.gov.tw)

◎國立臺灣大學農藝學系・林維怡

樹木透過根與土壤環境進行物質交換，並與益生真菌共演化出內生菌根(Endomycorrhizas)及外生菌根(Ectomycorrhizas)等共生構造，提升水分及養分的汲取效率；除了真菌之外，土壤中的細菌群落(Bacterial communities)也與植物的養分吸收功能及植體健康密切相關，有些細菌更被發現能夠促進共生菌根的生成。根圈(Rhizosphere)為緊鄰植物根部表面外圍的狹小土壤或介質空間，是土壤細菌與植物交互作用的熱點(Hotspot)，與周圍土壤的物理、化學及微生物特性明顯不同，也是細菌進入根部並成功定殖成為內共生細菌(Endophytic bacteria)的關鍵地帶。由於植物無法移動，除了要在固定位置獲取足夠的養分及水分，還需要防禦食草動物和病原體侵襲，並耐受乾旱、鹽害和污染物等的非生物逆境的挑戰，透過與有益微生物的交互作用，可提升植體生長和生存能力。本文將探討內共生細菌對林木生長和逆境抗性的影響。

植物根圈有益細菌

根圈細菌組成高度受到植物根分泌物的影響，具有較高的細菌群落豐富度，並常與植體產生交互影響，代謝植體分泌物，或進行物質交換，因此許多根圈細菌能夠幫助植物生長，Kloepper和Schroth於1978年首次提出了植物根圈促生細菌(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)的概念，指可促進植物生長及礦物質營養吸收，並能提高植物抗逆境能力的根圈細菌，這類細菌主要通過溶解

土壤中礦物質、分泌植物激素以及抑制病原微生物等方式來發揮功能。

植物內共生細菌

能夠進入植物體並與之共存的內共生細菌群落，正如與人體健康息息相關的腸道微生物，較根圈細菌更能直接影響植物體生長和健康。當植物面臨各種生存挑戰時，基因適應性相對較細菌慢，因此透過能更快適應環境變化的共生細菌群落的協助，可有效增進植物的適應性。藉由許多相關研究，目前已瞭解植物內共生細菌群落構成植物體內的獨特生態系統，以複雜的方式與植物產生交互作用，參與養分的獲取和循環，以及逆境耐受性的調控機制，對植物的生長和健康產生深遠的影響。內共生細菌群落的組成分子會受到環境因子、植物遺傳背景以及非生物或生物逆境影響而改變。內共生細菌群落是植物生存不可或缺的部分，在植物適應環境挑戰中具有重要作用，因此我們應將植物個體與其內共生細菌群落結合，視為一個整體來看待。接下來將整理過往研究，以說明內共生細菌於林木管理上的應用潛力。

內共生細菌與林木生長

與農作物相比，林木具有更大的生物量，並且在陸地生態系中存在更長的時間，可以為內共生細菌提供獨特的生態條件，但目前對於內共生細菌的研究僅集中於少數幾個樹木類群，包括松樹、雲杉、楊樹、橡樹、

雪松和柳樹等。從這些樹木中被分離出內共生細菌，常見的有不動桿菌(*Acinetobacter*)、伯克氏菌(*Burkholderia*)、芽孢桿菌(*Bacillus*)、腸桿菌(*Enterobacter*)，甲基桿菌(*Methylobacterium*)、微桿菌(*Microbacterium*)，假單胞菌(*Pseudomonas*)，類芽孢桿菌(*Paenibacillus*)，拉恩氏菌(*Rahnella*)、鞘脂單胞菌(*Sphingomonas*)及黃單胞菌(*Xanthomonas*)等。部分內共生細菌透過各種直接和間接機制，促進樹木的生育，直接機制包括細菌藉由合成生長素(Auxin)、吉貝素(Giberelin)及細胞分裂素(Cytokinin)等植物激素和固氮作用等幫助樹木生長及獲取營養，間接機制則包括細菌對病原體的抑制或加強共生菌根與寄主樹木間的交互作用，增進樹木健康。植物與共生細菌之間的交互作用大部分在根部進行，但在樹梢、花朵、花粉及種子等地上部構造之中，也有內共生細菌的存在，並被發現具有合成維生素B12等不同的促進植物生長機制。

松屬(*Pinus* spp.)植物是針葉樹中一大類群，植群廣布全球，並常被用於大規模造林，如美國黑松(*Pinus contorta*)即是北美洲常見的商用木材樹種。1995年研究人員首次從美國黑松苗木中分離出具生長促進效果的細菌，證明內共生細菌確實存在，並命名為Pw-2品系細菌，研究人員將該品系細菌重新接種於美國黑松種子苗，發現該細菌能夠提高美國黑松根部的吲哚乙酸(Indoleacetic acid, IAA)及玉米素核苷(Dihydro-zeatin riboside, DHZR)等植物生長相關激素的濃度，可能藉由影響植物荷爾蒙含量而刺激苗木生長及生物量，後續該品系被鑑定為*Paenibacillus polymyxa*細菌。

台灣赤楊(*Alnus formosana*)為常見的固

氮樹種，廣泛分布於不同海拔地帶，且生長快速，常於溪濱及崩塌地形成優勢森林，為台灣原生林演替的早期樹種，近年被視為生態復育的潛力樹種(圖1)。台灣赤楊特殊的固氮能力，即是緣於其與放線根瘤菌(*Frankia* spp.)共生而產生具固氮能力的根瘤，因此也被稱為放線根瘤植物(Actinorhizal plants)；除了赤楊之外，能與放線根瘤菌共生並形成根瘤的樹木尚有楊梅及木麻黃等植物，國內研究顯示，尚未形成根瘤的台灣赤楊苗木，接種由野生台灣赤楊根瘤所分離出的放線根瘤菌後，具有較佳的生長狀況，且根系結構及強度也顯著提升，顯示共生細菌對台灣赤楊生長具有關鍵的影響。前人研究也發現，赤



圖1 原生樹種台灣赤楊(*Alnus formosana*)會與放線根瘤菌(*Frankia* spp.)共生，形成具固氮能力的根瘤(林冠穎 攝)

楊生長受到放線菌、叢枝菌根菌及其他植物生長促進細菌交互作用影響：受放線菌感染後的赤楊有較高生物量，如又接種叢枝菌根菌(*Gigaspora margarita*)，赤楊生物量更加提高，此時再添加戀臭假單孢菌(*Pseudomonas putida*)，則能增進赤楊對叢枝菌根菌的易感性(Susceptibility)，使赤楊生長進一步被促進。而放線根瘤菌也具有在不同物種間交互定殖的能力，曾有研究人員將自木麻黃中分離的放線根瘤菌株，接種於赤楊及楊梅等植物，並成功形成根瘤，在造林應用上，曾有研究利用藻珠(Alginate beads)包埋特定放線根瘤細菌品系作為接種原，混入木麻黃出栽苗木介質，發現確實能增進林木生長。

內共生細菌與林木疫病

樹木在生長發育的各個階段，皆可能受到環境中各種病原菌的影響，包含有害的真菌、細菌、線蟲及病毒等，在人工林經營上更常是重要的挑戰。楊樹(*Populus* spp.)廣泛分布於歐洲、亞洲和北美洲，尤以中國大陸造林面積最大，為重要的木材和防護林樹種，也是造紙和生質乙醇的重要原料，具有重要的生態和經濟價值。楊樹潰瘍病是由病原真菌 *Botryosphaeria dothidea* 所引起，為楊樹常見病害之一，主要危害苗木生長，有研究人員從楊樹中分離出枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)菌株，並發現其發酵液能有效抑制 *B. dothidea* 的菌絲生長和孢子發芽，且引起菌絲形態異常。除了楊樹，另有在櫟樹(*Quercus fusiformis*)分離出芽孢桿菌及假單胞菌，也被證明能夠降低萎凋病原真菌 *Ceratocystis fagacearum* 造成的危害。目前已有許多其他的研究指出內共生細菌

對於病原菌的抑制作用，顯示林木內共生細菌可能具有作為生物防治材料的潛力。

內共生細菌與林木逆境適應

除了病原菌及動物攝食引起的生物逆境外，環境負面因子所造成的非生物逆境也對樹木生長造成很大的影響，研究指出，部分內共生細菌能夠協助宿主對抗這些挑戰。從楊樹根、莖及葉片等各部位分離出 *Enterobacter* sp. 等多種內共生細菌，被發現能夠分解土壤中的BTEX(苯(Benzene)、甲苯(Toluene)、乙苯(Ethylbenzene)及同分異構的二甲苯(Xylene)之合稱)、三氯乙烯(Trichloroethylene, TCE)及三硝基甲苯等環境污染物，被推測在楊樹優異的土壤修復功能中扮演重要角色；西班牙栓皮櫟(*Quercus suber*)為生長於地中海地區的軟木原料樹種，近年氣候變遷造成生育地降水減少，導致嚴重減產，研究人員基於分子生物技術獲得的分析資料，發現根部伯克氏菌能促進紅菇(*Russula* spp.)與櫟樹建立共生關係，進一步形成外生菌根，且此種共生組成具有較佳的耐旱能力，被推測在西班牙栓皮櫟適應缺水逆境上具有重要功能。

內共生細菌與其他共生微生物

微生物與植物等多細胞生物經常存在密切聯繫，因此觀測生物體的單元已由「生物個體(Biological individual)」的觀點逐漸轉向「合生體(Holobiont)」，即多細胞真核生物及其微生物共生體共同組成，例如樹木除了可與真菌共生形成菌根構造外，也可能同時與各類細菌建立共生關係。菌根輔助細菌(Mycorrhiza helper bacteria, MHB)是一類可

促進菌根共生體系形成的細菌統稱，可以增強菌根真菌孢子萌發及存活的機率，在共生關係建立前刺激菌絲生長，增加植物根部對真菌共生信號的接受能力，最終影響菌根共生體系的形成；螢光假單胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)能促進歐洲雲杉(*Picea abies*)菌根的形成，楊樹中分離出的假單胞菌可提高雙色蠟蘑(*Laccaria bicolor*)菌絲的生長密度，並改變菌絲分枝的角度，若與特定的菌根輔助細菌共生組合，能夠進一步促進次生根的生長。菌根輔助細菌-菌根真菌-植物體形成的互利共生關係，對於苗木培育及人工林經營具有重要的理論價值。除了菌根輔助細菌外，菌絲內共生細菌(Endohyphal bacteria, EHB)也與真菌共生，其中一種菌絲內共生細菌 *Mycoavidus cysteinexigens* 會定殖於長孢被孢黴(*Mortierella elongate*)中，藉以獲得自身無法合成的代謝產物，並共同促進樹木生長。此外，內生菌根真菌及外生菌根真菌的孢子及菌絲也曾被發現有菌絲內共生細菌的存在，並能隨寄主植物的拓殖而傳播。

現行研究發展及應用

傳統上藉由分離培養的方式研究植物內共生細菌的群落組成及生理功能(圖2)，然而從植物樣品中分離和培養所有的共生細菌有相當的難度，歸功於分子技術的進步，目前次世代定序(Next generation sequencing, NGS)技術已十分普及，近年更有被大幅改良而被稱為第三代定序的長片段定序(Third generation sequencing / Long read sequencing)技術的出現，這類分子生物學研究方法已廣泛被應用於細菌群落的觀測，能有效且全面

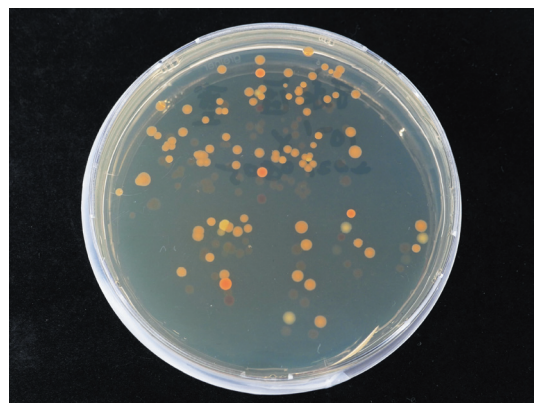


圖2 傳統上藉由分離培養研究內共生細菌，圖為由植物體內分離出的細菌菌落(林冠穎 攝)

地呈現細菌群落的組成結構，並可進一步依據基因資料庫來預測細菌的代謝功能。更多樹木共生細菌及其他共生微生物全基因定序工作的開展，將能幫助我們瞭解共生機制，包含共生細菌對於寄主植物生長、生理及逆境調適的影響，並配合傳統的分離培養、重新接種等方式來驗證細菌功能；近年更有研究人員以整個微生物群落為處理進行研究，闡明寄主樹木及微生物群落交互作用的模式，瞭解微生物群落如何影響樹木生理表現。綜合各項研究成果，將有助於我們以營造適合的微生物群落為出發點，提供林木最佳管理方式，同時得以維護樹木健康，另一方面，也能為快速育苗及抗性育苗菌劑開發工作，提供新的方向。⊕