

宏基因组学在植物病害研究中的应用

汪盼盼 杨野 刘迪秋 崔秀明 刘源

(昆明理工大学生命科学与技术学院 云南省三七资源可持续发展利用重点实验室 国家中医药管理局三七资源可持续发展利用重点实验室
昆明市道地药材可持续发展利用重点实验室, 昆明 650500)

摘要: 随着测序技术的不断发展, 宏基因组学已成为当前研究热点, 是研究植物病害的重要手段之一。植物病害影响了植物的正常生长和发育, 甚至导致植物死亡。大部分植物病害是由致病微生物或病毒引起。与传统微生物组研究方法相比, 宏基因组可通过高通量测序和后续的生物信息学分析, 探明样品中的物种组成和功能基因, 研究物种多样性。总结并比较了当前宏基因组的分析策略以及在植物根际微生物和植物病毒研究中的应用, 并对今后的发展趋势进行了展望, 以期宏基因组学在植物病害的相关研究中提供方法上的参考。

关键词: 宏基因组学; 高通量测序; 生物信息学; 植物病害

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2020-0207

Application of Metagenomics in Plant Diseases Research

WANG Pan-pan YANG Ye LIU Di-qiu CUI Xiu-ming LIU Yuan

(College of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Key laboratory of Sustainable Development and Utilization of *Panax notoginseng* Resources in Yunnan Province, State Administration of Traditional Chinese Medicine Key Research Lab of Sustainable Development and Utilization of *Panax notoginseng* Resources, Kunming Key Laboratory of Sustainable Development and Utilization of Authentic Medicinal Materials, Kunming 650500)

Abstract: With the continuous development of sequencing technology, metagenomics has become a current research hotspot and is one of the important approaches of studying plant diseases. Plant disease affects plant normal growth and development, even leads to the death of a plant. Most plant diseases result from pathogenic microorganisms or viruses. In contrast to traditional research methods on microbes, metagenomics can be used to investigate species composition and functional genes in samples by high-throughput sequencing and subsequent bioinformatics analysis, i.e. studying the species diversity. This paper summarizes and compares the analytical strategies of current metagenomics, and its applications in the study of plant rhizosphere microorganisms and plant viruses, and also provides an outlook on future trends, aiming at providing methodological reference in the study of plant diseases.

Key words: metagenomics; high-throughput sequencing; bioinformatics; plant diseases

植物病害是严重危害农业生产的病害之一, 植物病害的发生与作用机制, 一直是研究的热点和难点。病原体可以通过多种途径感染植物, 当植物不能与病原体抗衡时, 植物将会被病原体侵蚀。研究发现病害的发生主要与植物根际微生物和病毒的多样性以及植物自身的免疫力相关。随着研究的深入,

越来越多植物病害的发生及作用机制被揭示。

传统微生物组研究为获得植物中的病原物, 常采用酶标记抗体检测^[1]、特异性单克隆抗体鉴定^[2]或采用酶联免疫吸附法和PCR技术相结合的方法, 用于植物病原菌和病毒的检测^[3]。但环境中的微生物具有多样性, 约99.8%的微生物不能通过常规方

收稿日期: 2020-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(31960134), 云南省重大科技专项计划(2017ZF001)

作者简介: 汪盼盼, 女, 硕士研究生, 研究方向: 宏基因组学; E-mail: 945179704@qq.com

通讯作者: 刘源, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 生物信息学; E-mail: liuyuan513@kust.edu.cn

法被鉴定^[4]。宏基因组学与传统微生物组研究方法不同，可直接提取和鉴别环境中微生物的总 DNA 或 RNA，理论上可获取所有环境微生物或病毒的基因信息，为植物病害的研究提供了便利^[5]。目前，宏基因组学已被用于不同宏环境中微生物和病毒的研究，如来自土壤中的细菌、古细菌、真菌和病毒，以及海水中微生物的研究^[6]。本文重点介绍宏基因组学的分析策略，以及在植物病害研究中的应用。

1 宏基因组学

1.1 宏基因组学概述

宏基因组学最早由威斯康辛大学植物病理学部门的 Handelsman 等在 1998 年提出，宏基因组学是应用现代基因组学技术直接研究自然状态下微生物

的有机群落，而不需要在实验室中分离单一菌株的科学^[7]，即以多物种基因组为研究对象，利用分子生物学研究手段，对环境中的微生物进行研究的科学。主要通过对特定环境中全部微生物的核酸进行提取，构建测序文库，上机测序然后对获得的数据进行质控、组装、比对和注释，获得特定环境中的所有微生物，或根据 rDNA 数据库设计引物，最后借助生物信息学，获得其生物多样性和基因功能等信息。宏基因组的分析流程见图 1。

1.2 宏基因组的分析策略

自然界的微生物种类繁多，且种内和种间存在着差异，为获得更全面的基因信息，研究者采用高通量测序技术对特定环境样本进行深度测序，并开

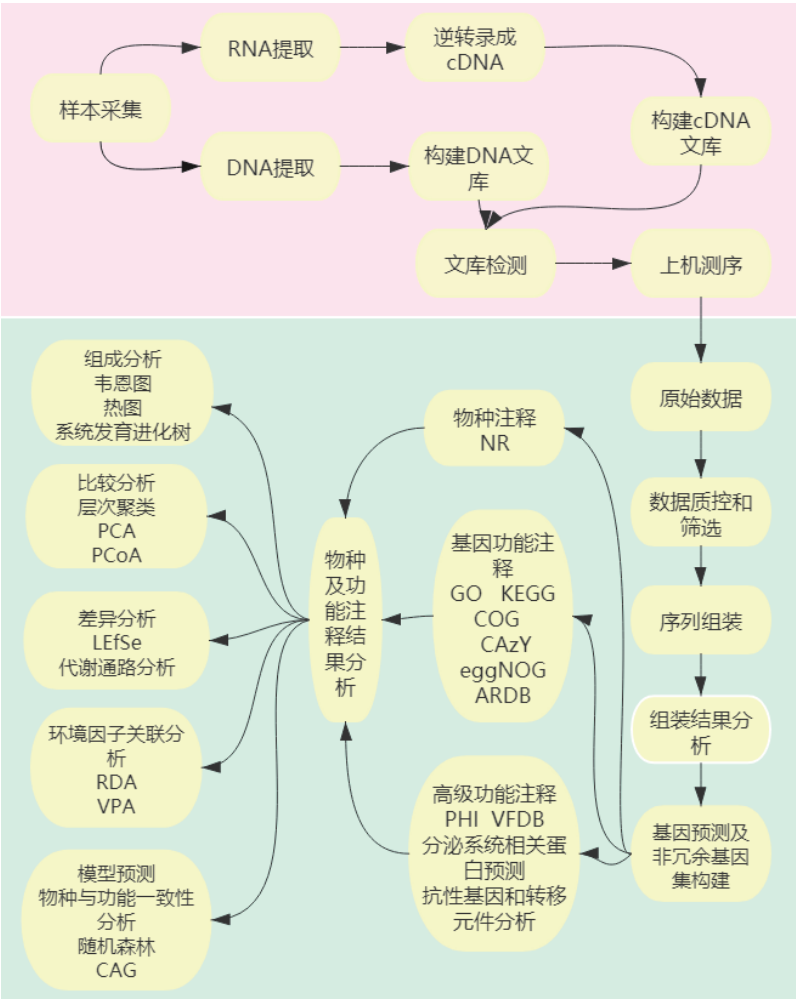


图 1 宏基因组的分析流程示意图

发相应的生物信息学分析策略和软件,发现微生物之间的差异,同时这些分析策略和软件促进了交叉学科的发展。

经过建库测序得到的碱基序列用 FastQC 和 KneadData 等软件进行数据质控,包括去除测序接头、去除宿主、去除低质量碱基等。得到的高质量序列用 Kraken2 或 MEGAHIT 等软件进行有参或无参分析。有参分析是针对有参考基因组的情况,首先将所有测序片段通过序列比对定位到参考基因组上,挑选出匹配好的片段用于后续分析^[8];无参分析由于无参考基因组,其组装结果一般为 contigs,目前广泛应用于从头解析未知物种的基因组序列、基因组成和进化特征等。再用 Prokka^[9] 进行基因注释和物种分类,对注释好的基因组,可构建非冗余基因集来描述环境中基因的整体信息。通过注释和物种分类可发现一些新的植物病原微生物以及微生物之间的功能差异基因。

目前,宏基因组学已经成为生物学最前沿的研究领域之一。测序技术已从依赖 DNA 聚合酶的生化反应转变为物理学中纳米技术的新领域^[10]。如第三代测序技术可通过零模波导孔,在单一 DNA 片段上边合成边测序,同时不再进行 DNA 扩增^[10],可使有效数据量更高,测序片段更长,再结合相应的生物信息学方法,提高了对宏环境样本中微生物群落结构和功能的分析能力,增加了发现新病原微生物的可能。

2 宏基因组学与植物病害

2.1 植物根际中微生物的多样性

根际是植物根系所包围和影响的狭长地带,是众多生物活动的热点区域,根际生态系统中包含无数的根际微生物,是最复杂的生态系统之一^[11]。根际微生物会直接或间接的影响自然植物群落的组成和生物量^[12-13]。地下微生物物种丰富程度被认为是地上植物多样性和生物量的预测因子^[14]。根际微生物由于其丰度的差异对植物有益有弊^[15]。迄今为止,对植物与根际微生物之间的相互作用已有许多研究,包括各种病原菌、共生根瘤菌和菌根真菌^[16-17]。

本课题组通过对氯化苦熏蒸处理后土壤中的微生物菌群分析发现,氯化苦熏蒸土壤能显著防

治三七的连作障碍,但细菌、真菌和放线菌数量分别降低了 50%、19% 和 38%^[18]。通过 16S rDNA 测序技术,发现氯化苦消毒处理后,主要三七致病菌假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*) 占比均出现显著下降^[19]。

根际微生物可促进根对营养物质的吸收和防御病原物的入侵,但是关于微生物对植物生长、健康和疾病带来的影响知之甚少,亦有研究发现人类致病菌在植物组织上扩散^[20-23]。阐明根际微生物群落的形成和变化过程,不仅是植物保护的需要,也是人类健康的保障。

2.2 植物病原菌导致作物经济损失

多数植物病害由低等动物、微生物和病毒等的复合作用引起,这些病原体攻克了根际为植物提供的防御层,引起植物病害,导致农作物减产,造成重大经济损失。

研究表明真菌是真核生物中最具多样性的类群之一,也是土壤微生物群落的重要组成部分^[24]。真菌和卵菌引起的典型症状包括根腐、溃疡、萎蔫、叶和芽的损伤。马铃薯枯萎病的致病菌 *Phytophthora infestans* 被证明是 1845 年-1852 年间爱尔兰大饥荒的罪魁祸首^[25]。西洋参的连作障碍严重影响西洋参的产率,造成极大的经济损失,而土壤微生物群落的变化是引起西洋参连作障碍的主要原因。Punja 等^[26] 采用 NGS 测序和依赖培养技术相结合,利用分子和形态学的特征,分析西洋参根际真菌多样性,筛选出多种病原菌,包括链格孢菌 (*Alternaria panax*)、柱状芽孢杆菌 (*Cylindrocarpum destructans*)、尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 等真菌。豌豆产量主要受豌豆根腐病的影响,豌豆的根腐病由多种病原菌引起,其中真隐孢子虫是全球豌豆根腐病重要的卵菌病原^[27],研究者利用宏基因组学,确定了加拿大草原豌豆根腐病相关卵菌的类型和丰度^[28]。也有研究者利用宏基因组学手段获得了导致柑橘黄龙病的植物病原菌“亚洲假丝酵母 (*Candidatus Liberibacter asiaticus*)”的完整序列^[29]。由病原菌引起的马铃薯枯萎病、人参属物种的连作障碍、豌豆根腐病以及柑橘黄龙病等植物病害给植物的生产和利用造成了极大的损失,现利用宏基因组学可直

接从环境样品中定位真菌的种类,加快植物病害的发现和诊断过程,为植物病害的防治提供了有效的手段。

2.3 植物益生菌可提高植物对病害的防御能力

研究显示固氮菌、根瘤菌、根际促生菌和生防微生物等植物益生菌为植物抵御病原菌的入侵提供了帮助^[30],且微生物不同成员可在感染前和感染期间,以及在根组织中的传播期间对抗植物病原菌。

生活在植物体内的有益微生物可以促进植物的健康生长,但有益微生物的基因组和功能基因在很大程度上仍然未知。Rudrappa等^[31]利用宏基因组学发现,Pst DC3000可以诱导拟南芥根系分泌苹果酸(MA),MA以剂量依赖的方式选择性地发出信号并招募有益的枯草芽孢杆菌(FB17),促进FB17与拟南芥根系结合和生物膜的形成,从而抵御病原菌的侵害。Carrión等^[32]采用宏基因组学发现先前未确认的黄杆菌NRPS-PKS基因簇对内生菌群疾病抑制至关重要。Manoj等^[33]通过高通量和鸟枪法基因组测序比较有症状和无症状香蕉植株的内生菌群。结果表明,香蕉根际内生菌群主要是蛋白菌和类杆菌,其次是放线菌。香蕉根际内生菌有望成为防治香蕉枯萎病和其它植物病原菌的生物防治剂。也有研究发现植物根际可以分泌挥发性有机物(Volatile organic compounds, VOCs),VOCs能够通过土壤中的孔隙扩散^[34],抑制真菌病原体的菌丝生长,保护植物免受真菌病原体的侵害^[35]。目前,利用宏基因组学已发现许多植物益生菌,未来可将植物益生菌运用到植物病害的生物防治方法中。

2.4 植物病毒的多样性

19世纪90年代人们发现了烟草花叶病毒,开创了植物病毒学领域^[36]。然而植物病毒学的大部分研究都集中在农作物和观赏植物中的致病病毒,但宏基因组研究表明,野生植物中的病毒也非常丰富,而且被病毒感染的植物通常无症状^[36],另外互惠型植物病毒的例子很少。

2.4.1 驯化植物中的病毒 在植物病毒的研究中,对驯化植物的病毒研究最多。多项研究表明,病毒性病原体可引起葡萄产量和葡萄酒产品质量以及葡萄园的生产寿命下降^[37]。Xiao等^[37]利用宏基因

组分析揭示了复杂的葡萄病毒组,包括葡萄卷叶病毒3号(*Grapevine leafroll associated virus 3*)的两个新变种,加深了对复杂藤茎植物病毒基因多样性的认识,有助于探索葡萄卷叶病的作用机制,促进葡萄产业的发展。桃作为世界上温带和亚热带地区重要的水果,桃树很容易感染致病病毒,对桃的产量以及质量有很大影响。桃树病毒的检测和鉴定是桃树病毒学研究的关键。Zhou等^[38]利用宏基因组学技术检测出新型的ssRNA病毒,命名为peach virus 1,为战胜桃树致病病毒提供了有利的条件。仙人掌(*Opuntia* sp.)是墨西哥栽培的重要美食作物,但是一直被Potexviruses opuntia virus X、Schlumbergera virus等病毒困扰,Héctor等^[39]利用宏基因组学在仙人掌中检测出烟草病毒属的一个新种,命名为“仙人掌病毒2号”,为仙人掌病害的防治提供了参考。

2.4.2 野生植物中的病毒 野生植物中可能藏有无数未知的病毒,以前受实验检测技术的限制,很多野生植物中的病毒都未被发现。最近基于高通量测序技术,特别是针对microRNA的测序方法,能够从野生宿主中发现病毒,研究这些潜在的病原,有助于预测疾病的出现^[40]。Susi等^[40]从奥兰采集的柳叶车前草中鉴定出一种新的柳叶车前草潜伏病毒*Plantago lanceolata latent virus*(PILV),并通过深度测序确定病毒的多样性和流行率。结果表明奥兰群岛的柳叶车前草种群中的5种病毒(*Plantago lanceolata latent virus*、*Caulimovirus*、*Betapartitivirus*、*Enamovirus*和*Closterovirus*)的流行率各不相同。最后成功地开发出用树液和蚜虫接种PILV、*Caulimovirus*和*Enamovirus*的防治策略^[41]。Power等^[42]研究了黄体病毒-黄矮病毒/谷类黄矮病毒(*Cereal yellow dwarf virus*, BYDV/CYDV)复合物在北美草原上的流行特征,发现病毒的流行是由植物群落内部以及植物、昆虫、食草动物和非生物因素之间的相互作用决定。Moore等^[43]研究表明野生草原植物群落的组成对BYDV/CYDV复合物的传播具有重要影响。Malmstrom等^[44-45]对加利福尼亚草原的研究表明,入侵物种可通过吸引更多蚜虫到该区域,然后将病毒传播到易受感染的本地草原,从而促进BYDV/CYDV的传播,并增强外来物种的入侵。对野生植物中病毒的多样性进行研究,可能会对野生

植物自然种群的生态进化过程产生新的认识。研究者可利用宏基因组学技术去发现潜在的植物病毒，为植物病害的防治提供方法。

2.4.3 植物与病毒的互利共生 通常认为植物病毒是有害的，但是一些研究结果表明植物病毒可通过多种方式对宿主产生积极影响。在某些情况下，病

毒增强了植物抵抗非生物胁迫的能力^[46](表1)。

2.5 植物病害的防治方法

据估计，全球每年约有 10%–20% 的粮食因植物病害而损失。目前，人们越来越抵制化学制剂的滥用，因此迫切需要更好的方法来控制植物病原体，以维持和提高作物产量，并确保未来的粮食安全。

表 1 互惠病毒案例

宿主	病毒	互惠关系	参考文献
真菌内生植物	<i>Curvularia thermal tolerance virus</i>	赋予共生植物热耐受性，耐受温度可达 65℃	[47]
番茄	Tomato endogenous pararetroviral	保护番茄免受外源性 LycePRV 和其他相关病毒的感染	[48]
植物	<i>Cytomegalo</i>	提高植物耐旱和耐寒的特性	[49]
栗子	<i>Cryphonectria parasitica</i>	当真菌感染 <i>Cryphonectria parasitica</i> 后，植株的病理影响大大降低	[50]
白三叶草植物	White clover mosaic virus	白三叶草植物感染 WCIMV 后对真菌性蚊虫的吸引力降低	[51]

生物防治作为一种防治植物疾病，特别是土传疾病的手段，由于其安全无毒，在植物病害的防治中越来越重要。常见的生物防治方法是有目的地引入微生物制剂和富集植物根际的有益微生物来抑制植物病原体的活动^[52]。宏基因组的研究有助于了解土壤微生物的群落结构，发掘有益微生物以及了解微生物的作用机理。

在生物防治方法中，引入具有多种作用机制或具有多种生态需求的生物防治剂日趋成熟^[53]。许多有益微生物，特别是内生菌，被植物根系分泌的有机酸所吸引，产生生物膜，诱导植物抗病。引入的菌株必须在潜在的感染部位存活很长一段时间，而且在缺乏植物的情况下，微生物制剂必须在资源有限的土壤环境中保持休眠状态，该微生物制剂还必须具有迅速改变其生理状态的能力，进入快速生长阶段，与病原体进行营养元素竞争^[54]。例如荧光假单胞菌株在根际中富集，这些菌株具有与宿主内胚层定殖相一致的代谢范围，这一特性可以提高菌株的持久性，从而抑制疾病^[55]。现通过宏基因组测序已能够预测微生物制剂是否对目标病原体有作用，亦可通过基因组学与数据挖掘相结合，筛选出用于生物防治剂的候选菌株^[56]，结合代谢组学，还可能发现新的、具有抗菌活性的代谢产物^[57]。目前的研究表明许多具有不同特性的有益根际微生物制剂已被引入土壤、种子和种植材料中，以提高植物对病

害的防御能力^[58]。

但是，不合适的微生物制剂由于接种的根际环境不适宜，或与本地微生物群争夺资源，以及干扰本地微生物群，往往无效或有害^[59]。利用植物病原菌的特异性噬菌体进行生物防治，可以保护原根际微生物群，进行更精准的生物防治^[60]。噬菌体的主要优点是其宿主特异性，在存在宿主细菌的情况下，具备快速繁殖的能力，还可以在周围的微生物群不受影响的情况下靶向杀死病原体。2019 年，Wang 等^[61]利用噬菌体联合治疗番茄青枯病，在受番茄青枯病菌污染的农田中发现增加噬菌体数量可以提高噬菌体的生物防治效果，且不影响原有的根际微生物群，表明噬菌体治疗是一种安全环保的植物病原菌抑制方法。在未来，利用噬菌体进行生物防治具有广阔的前景。

另外有研究表明 RNA 沉默具有抗病毒的作用^[62]，植物病毒可编码专门的运动蛋白，以修改胞间连丝通道，从而允许病毒 RNA 复合物或病毒样颗粒的细胞间运动^[63]，利用 RNA 沉默调控机制，无疑是提高植物病害防治的有效方法之一。

综上所述，生物防治是控制植物病害的有效方法，利用宏基因组学不仅可以探明微生物的群落结构，了解植物根际微生物特征，还可以为生物防治提供有效的研究思路，开发出新的生物防治方法，减少植物病害的发生。

3 问题与展望

高通量测序技术对植物病害研究具有里程碑的意义,引领了科学研究模式的革新和研究思维的转变。宏基因组学借助高通量测序技术已对植物根际微生物、植物病毒等诸多方面展开了深入的研究。为进一步筛选出更多植物益生菌、探究植物与病毒之间的多样性、促进植物病害的防治,有以下几点需要注意。

(1) 高通量测序技术解决了传统微生物组学的技术难题,在宏基因组学研究中扮演着重要的角色,但是物种的鉴定在很大程度上依赖于序列信息、参考基因组、分析软件和数据库,然而由于数据库中数据的不完善和不准确,这种基于序列的识别可能是错误的,物种分类结果不一定准确。针对这些缺陷,需要借助额外的数据和实验验证步骤加以弥补。

(2) 植物根际生态系统是最复杂的生态系统之一,包含了多种多样的微生物,随着对植物根际微生物的研究越来越多,发现它们之间的相互作用以及各自的作用机制仍待阐明。在一些研究中发现宏环境中可能存在致病的人类病原体,如根际环境调查中发现导致皮肤、伤口和尿路感染的其他细菌种类^[64],但对其毒性的了解相对较少。

(3) 之前对植物病毒的理解大多都与植物病害有关,现在通过研究发现一些病毒与植物具有互利共生的关系。另外野生植物病毒的多样性及其作用机制的研究还处于起步阶段,利用宏基因组学将提供更加可靠的病毒检测和病害诊断依据,再科学的利用有益的植物病毒,开发有效的生物防治策略,对减少植物病害,降低经济损失有更高的推广价值。

(4) 在植物病害防治中,微生物制剂,噬菌体疗法以及 RNA 沉默等方法发挥了重要的作用。利用宏基因组学技术,检测微生物制剂在植物根际对其它病原微生物群落的影响,可以更加明确微生物制剂的作用效果及机理。另外明确生态系统中生防因子-环境-病原菌之间的相互关系,更加全面地了解微生物间的拮抗和促进机理,进而在实施生物防治时,能动态的调节生物防治剂与病原菌之间的平衡,达到防治病害过程中生物防治剂的供求平衡,满足不破坏生态环境的要求。

随着测序技术的不断发展,宏基因组学将为植物病害的生物防治提供更加广阔的研究方法和手段,并将推动生物医学、农业、生物能源和生物技术等各大领域的快速发展。

参考文献

- [1] Clark MF, Adams AN. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses [J]. J Gen Virol, 1977, 34 (3): 475-83.
- [2] Candresse T, Cambra M, Dallot S, et al. Comparison of monoclonal antibodies and polymerase chain reaction assays for the typing of isolates belonging to the D and M serotypes of plum pox potyvirus [J]. Phytopathology, 1998, 88: 198-204.
- [3] Martin RM, James D, Levesque CA. Impacts of molecular diagnostic technologies on plant disease management [J]. Annual Review of Phytopathology, 2000, 38: 207-239.
- [4] Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification of individual microbial cells without cultivation [J]. Microbiol Review, 1995, 59 (1): 143-169.
- [5] Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products [J]. Chem Biological, 1998, 5 (10): 245-249.
- [6] Ian PA, Rachel HG, Wendy AM, et al. Next-generation sequencing and metagenomic analysis: a universal diagnostic tool in plant virology [J]. Molecular Plant Pathology, 2009, 10 (4): 537-545.
- [7] Chen K, Pachter L. Bioinformatics for whole-genome shotgun sequencing of microbial communities [J]. PLoS Computational Biology, 2005, 1 (2): e24.
- [8] 周华, 张新, 刘腾云, 等. 高通量转录组测序的数据分析与基因挖掘 [J]. 江西科学, 2012, 30 (5): 607-611.
Zhou H, Zhang X, Liu TY, et al. Data processing and gene discovery of high-throughput transcriptome sequencing [J]. Jiangxi Science, 2012, 30 (5): 607-611.
- [9] Seeman T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation [J]. Bioinformatics, 2014, 30 (14): 2068-2069.
- [10] 田李, 张颖, 赵云峰. 新一代测序技术的发展和应 [J]. 生物技术通报, 2015, 31 (11): 1-8.
Tian L, Zhang Y, Zhao YF. The next generation sequencing technology and its applications [J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31 (11): 1-8.

- [11] Raaijmakers JM, Paulitz TC, Steinberg C, et al. The rhizosphere : a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms [J] . *Plant and Soil*, 2009, 321 : 341-361.
- [12] Marcel GA. Van DH, Richard D, et al. The unseen majority : soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems [J] . *Ecology Letters*, 2007, 11 (3) : 296-310.
- [13] Schnitzer SA, Klironomos JN, HilleRisLambers J, et al. Soil microbes drive the classic plant diversity-productivity pattern [J] . *Ecology*, 2011, 92 (2) : 296-303.
- [14] Wagg C, Jansa J, Schmid B, et al. Belowground biodiversity effects of plant symbionts support aboveground productivity [J] . *Ecology Letters*, 2011, 14 (10) : 1001-1009.
- [15] Maurhofer M, Keel C, Schnider U, et al. Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 on its disease suppressive capacity [J] . *Phytopathology*, 1992, 82 : 190-195.
- [16] Tian BY, Cao Y, Zhang KQ. Metagenomic insights into communities, functions of endophytes, and their associates with infection by root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato roots [J] . *Scientific Reports*, 2015, 5 : 17087.
- [17] Dnceppe MO, Kimoto T, Lemieux C, et al. Screening for exotic forest pathogens to increase survey capacity using metagenomics [J] . *Phytopathology*, 2018, 108 (2) : 1509-1521.
- [18] 欧小宏, 刘迪秋, 王麟猛, 等. 土壤熏蒸处理对连作三七生长发育及土壤理化性状的影响[J]. *中国现代中药*, 2018, 20(7): 842-849.
- Ou XH, Liu DQ, Wang LM, et al. Effects of soil fumigant chloropicrin on the growth development and soil physico-chemical properties of continuous cropping panax notoginseng [J] . *Modern Chinese Medicine*, 2018, 20 (7) : 842-849.
- [19] 王峰, 吕艺, 刘洋, 等. 氯化苦土壤消毒对三七种植后细菌群落多样性及烤烟轮作的影响 [J] . *昆明理工大学学报 : 自然科学版*, 2019, 4 (44) : 90-96.
- Wang F, LÜ Y, Liu Y, et al. Effects of fumigation with chloropicrin on soil fungal composition and diversity after continuous cropping of *Panax notoginseng* [J] . *Journal of Kunming University of Science and Technology : Natural Science*, 2019, 4 (44) : 90-96.
- [20] Van LL. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria [J] . *European Journal of Plant Pathology*, 2007, 119 : 243-254.
- [21] Tyler HL, Triplett EW. Plants as a habitat for beneficial and/or human pathogenic bacteria [J] . *Annual Review of Phytopathology*, 2008, 46 : 53-73.
- [22] Holden N, Pritchard L, Toth I. Colonization outwith the colon : plants as an alternative environmental reservoir for human pathogenic enterobacteria[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2009, 33(4) : 689-703.
- [23] Teplitski M, Warriner K, Bartz J, et al. Untangling metabolic and communication networks : interactions of enterics with phyto bacteria and their implications in produce safety [J] . *Trends in Microbiology*, 2011, 19 (3) : 121-127.
- [24] Pierret A, Doussan C, Capowicz Y, et al. Root functional architecture : A framework for modeling the interplay between roots and soil [J] . *Vadose Zone Journal*, 2007, 6 (2) : 269-281.
- [25] Goss EM, Tabima JF, Cooke DE, et al. The Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* originated in central Mexico rather than the Andes [J] . *Proc Natl Inst Sci USA*, 2014, 111 (24) : 8791-8796.
- [26] Punja ZK. Fungal pathogens of American ginseng (*Panax quinquefolium*) in British Columbia [J] . *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1997, 19 (3) : 301-306.
- [27] Gaulin E, Jacquet C, Bottin A, et al. Root rot disease of legumes caused by *Aphanomyces euteiches* [J] . *Molecular Plant Pathology*, 2007, 8 (5) : 539-548.
- [28] Chatterton S, Gossen B, McLaren D, et al. Metagenomic analysis of oomycete communities from the rhizosphere of field pea on the Canadian prairies [J] . *Canadian Journal of Microbiology*, 2017, 63 (9) . [https : //doi.org/10.1139/cjm-2017-0099](https://doi.org/10.1139/cjm-2017-0099).
- [29] Duan Y, Zhou L, Hall DG, et al. Complete genome sequence of citrus huanglongbing bacterium, ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ obtained through metagenomics [J] . *Microbiology Resource Announcements Starting*, 2009, 22 (8) : 1011-1020.
- [30] Cook RJ, Thomashow LS, Weller DM, et al. Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease [J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92 (10) : 4197-4201.
- [31] Rudrappa T, Czymmek KJ, Pare PW, et al. Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria [J] . *Plant Physiology*, 2008, 148 (3) : 1547-1556.
- [32] Carrión VJ, Perez-Jaramillo J, Cordovez V, et al. Pathogen-induced activation of disease-suppressive functions in the endophytic root

- microbiome [J]. Science, 2019, 366 (6465) : 606-612.
- [33] Manoj K, George M, Rony S. Metagenomic insights of the root colonizing microbiome associated with symptomatic and non-symptomatic bananas in *Fusarium* wilt infected fields [J]. Plants, 2020, 18, 9 (2) : 263.
- [34] Insam H, Seewald MSA. Volatile organic compounds (VOCs) in soils [J]. Biology and Fertility of Soils, 2010, 46 (3) : 199-213.
- [35] Vespermann A, Kai M, Piechulla B. Rhizobacterial volatiles affect the growth of fungi and *Arabidopsis thaliana* [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73 (17) : 5639-5641.
- [36] Marilyn JR. Plant virus metagenomics : biodiversity and ecology [J]. Annual Review of Genetics, 2012, 46 : 359-369.
- [37] Xiao HG, Li CH, Rwahni MA, et al. Metagenomic analysis of riesling grapevine reveals complex virome including two new and divergent variants of *Grapevine leafroll associated virus 3* [J]. Plant Disease, 2019, 103 (6) : 1275-1285.
- [38] Zhou J, Cao K, Zhang ZX, et al. Identification and characterization of a novel rhabdovirus infecting peach in China [J]. Virus Res, 2020, 280 : 197905.
- [39] Héctor SO, Rodolfo DLTA, Jesús ÁSN, et al. Identification and genomic characterization of a novel tobamovirus from prickly pear cactus [J]. Arch Virol, 2020, 165 (3) : 781-784.
- [40] Susi H, Denis F, Mikko JF, et al. Diverse and variable virus communities in wild plant populations revealed by metagenomic tools [J]. PeerJ, 2019, 7 : e6140.
- [41] Susi H, Laine AL, Filloux D, et al. Genome sequences of a capulavirus infecting *Plantago lanceolata* in the land archipelago of Finland [J]. Archives of Virology, 2017, 162 : 2041-2045.
- [42] Power AG, Borer ET, Hosseini P, et al. The community ecology of barley/cereal yellow dwarf viruses in Western US grasslands [J]. Virus Res, 2011, 159 : 95-100.
- [43] Moore SM, Borer ET. The influence of host diversity and composition on epidemiological patterns at multiple spatial scales [J]. Ecology, 2012, 93 : 1095-1105.
- [44] Malmstrom CM, Hughes CC, Newton LA, et al. Virus infection in remnant native bunchgrasses from invaded California grasslands [J]. New Phytol, 2005, 168 : 217-230.
- [45] Malmstrom CM, McCullough AJ, Johnson HA, et al. Invasive annual grasses indirectly increase virus incidence in California native perennial bunchgrasses [J]. Oecologia, 2005, 145 : 153-164.
- [46] Marilyn JR. Plants, viruses and the environment : Ecology and mutualism [J]. Virology, 2015, 479-480 : 271-277.
- [47] Márquez LM, Redman RS, Rodriguez RJ, et al. A virus in a fungus in a plant : Three-way symbiosis required for thermal tolerance [J]. Science, 2007, 315 (5811) : 513-515.
- [48] Staginnus C. Endogenous pararetroviral sequences in tomato (*Solanum lycopersicum*) and related species [J]. BMC Plant Biology, 2007, 7 : 24.
- [49] Xu P, Fang C, Jonathan P, et al. Virus infection improves drought tolerance [J]. New Phytologist, 2008, 180 (4) : 911-921.
- [50] Nuss DL. Encyclopedia of virology [M]. Academic Press, 2008.
- [51] VanMolken T, DeCaluwe H, Hordijk CA, et al. Virus infection decreases the attractiveness of white clover plants for a non-vectoring herbivore [J]. Oecologia, 2012, 170 (2) : 433-444.
- [52] Eilenberg J, Hajek A, Lomer C. Suggestions for unifying the terminology in biological control [J]. BioControl, 2001, 46 (4) : 387-400.
- [53] Xu XM, Jeffries P, Pautasso M, et al. Combined use of biocontrol agents to manage plant diseases in theory and practice [J]. Phytopathology, 2011, 101 (9) : 1024-1031.
- [54] Blagodatskaya E, Blagodatsky S, Kuzyakov Y, et al. Microbial growth and carbon use efficiency in the rhizosphere and root free soil [J]. PLoS One, 2014, 9 (4) : e93282.
- [55] Timm CM, Campbell AG, Uttukar SM, et al. Metabolic functions of *Pseudomonas fluorescens* strains from *Populus deltoides* depend on rhizosphere or endosphere isolation compartment [J]. Front in Microbiol, 2015, 6 : 1118.
- [56] Inch S, Leder J, Taylor A, et al. Evaluation of microbials using comparative genomics and high-throughput assays as a method to reduce product development time [J]. Phytopathology, 2016, 106 : 168.
- [57] Scheffler RJ, Colmer S, Tynan H, et al. Antimicrobials, drug discovery and genome mining [J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2013, 97 (3) : 969-978.
- [58] Bhattacharyya PN, Jha DK. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) : Emergence in agriculture [J]. World Journal of Microbiology Biotechnology, 2012, 28 (4) : 1327-1350.
- [59] Brodeur J. Host specificity in biological control : insights from opportunistic pathogens [J]. Evol Appl, 2012, 5, 470-480.

- [60] Alvarez B, Biosca EG. Bacteriophage-based bacterial wilt biocontrol for an environmentally sustainable agriculture [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8 : 1218.
- [61] Wang XF, Wei Z, Yang KM, et al. Phage combination therapies for bacterial wilt disease in tomato [J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37 : 1513-1520.
- [62] 田荣欢, 刘迪秋, 葛峰, 等. 植物病毒基因沉默抑制子研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2010 (4): 11-15.
- Tian RH, Liu DQ, Ge F, et al. Approach of research on gene silencing suppressors of plant virus [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2010 (4): 11-15.
- [63] Heinlein M. Plant virus replication and movement [J]. *Virology*, 2015, 479-480 : 657-671.
- [64] Berg G, Eberl L, Hartmann A. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria [J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7 (11): 1673-1685.
- (责任编辑 朱琳峰)

“青贮微生物”专题征稿函

青贮是饲草高质量保存的重要手段。青贮微生物结构及其功能是决定青贮发酵品质优劣的核心,其中,青贮益生菌具有抑制有害微生物生长、减少营养物质损失、改善适口性和提高动物生产性能等功能。随着国内外青贮微生物组研究的快速发展,青贮微生物多样性、代谢组分以及青贮微生物功能基因的鉴定与功能解析等备受关注,充分挖掘青贮微生物组的功能,对靶向调控青贮发酵品质和发现新型青贮功能添加剂提供理论基础。

《生物技术通报》特邀中国农业大学草业科学与技术学院杨富裕教授担任专刊主编,组织策划出版“青贮微生物”专题,对稿件学术质量进行把关,欢迎相关领域专家学者为本专刊撰稿,展示青贮微生物相关技术最新研究进展。

1、征稿范围:青贮微生物相关领域最新研究成果,包括研究论文和综述。具体内容包括但不限于青贮微生物多样性、青贮微生物代谢组分、青贮微生物功能基因鉴定与功能解析等。

2、收稿截止日期:2021年06月30日

3、投稿方式:请登陆我刊主页(<http://biotech.aiijournal.com>)先注册后投稿(投稿时请加注“青贮微生物”字样)。

4、特别说明:本专刊不是增刊,而是在2021年第9期《生物技术通报》正刊上出版。

5、收费标准:投稿请提交版权转让协议,经专家审读、录用后将按照《生物技术通报》规定收取版面费,赠送2本样刊。

6、联系方式:010-82109903, zhangtingting01@caas.cn

投稿中若有问题,欢迎随时与我们联系,我们将在第一时间答复您。



详细信息请扫码查看