

· 有害生物成灾与流行机制 ·

## 基于三者互作解析的虫媒植物病害 前沿防控技术研发策略

张璇<sup>1</sup> 叶健<sup>1,2\*</sup>

1. 中国科学院微生物研究所/植物基因组学国家重点实验室,北京 100101

2. 中国科学院大学 中国科学院生物互作卓越创新中心,北京 100049

**[摘要]** 虫媒病害是我国农业高产稳产的重大威胁之一,粮食作物、经济作物以及柑橘等多年生木本作物的病毒病害、细菌病害给我国乃至全球农业生产带来了严重的损失。介体昆虫在虫媒病害的流行和传播过程中发挥着重要作用,而虫媒病原的抗性基因研究在主要作物中匮乏,介体昆虫的抗性基因研究尚属空白,所以目前农业生产高度依赖化学杀虫剂对虫媒病害进行防治,导致昆虫耐药性和环境污染等问题,严重影响了我国和世界人民“舌尖上的安全”和生态文明建设。因此,深入探索病原—昆虫—植物三者互惠共生、协同进化的机制,研究农业生态系统中多病原、微生物组、昆虫群落包括天敌等生态因子和环境因子,明确病害流行、爆发、控制过程中的机制和调控关键节点,设计靶向性强、生态安全的新型调控剂和植物保护方案,均将为虫媒病毒的绿色防控提供新的理论基础。本文提出了病原—昆虫—植物三者互作的理论假说体系,包括了三者互作的核心、内层和外围组成;简要总结了三者互作的主要科学问题和目前研究现状;明确了现阶段主要集中于植物挥发物、植物激素以及外界环境在病原—昆虫—植物三者互作中的作用研究;分析了未来在三者互作研究过程中可能存在的瓶颈问题;力求为虫媒病害的绿色防控提供有力的理论基础和技术支持。

**[关键词]** 虫媒病害;病原—昆虫—植物三者互作;植物挥发物;植物激素;非生物胁迫抗性;绿色防控

植物病害每年对我国造成数千亿元的经济损失,而虫媒病害是我国农作物优质稳产的主要限制因素之一,严重制约着农产品的质量与产量。植物病毒种类繁多,目前已报道的植物病毒已超过 1 340 种,其中虫媒病毒占 80% 左右,引起的病害数量占植物病害的第二位<sup>[1]</sup>。虫媒病毒主要对水稻、大麦、小麦、玉米等主粮作物造成严重危害。细菌性虫媒病害,例如“明星病害”柑橘黄龙病的不断扩散危害,每年造成的经济损失逐渐增加。柑橘等经济作物产值已占我国农业种植业的一半以上,所以媒介传病害不但严重危害水稻、玉米、小麦、马铃薯等大作物,还会导致经济作物的重大损失。这类虫媒系统性病害一直是防控中的难点,而全球在该领域的基础研究仍处于相对滞后状态,极大影响了农业产业经济



叶健 中国科学院微生物研究所研究员,农业微生物与生物技术研究室副主任。主要从事虫媒病毒传播和控制的生物学基础及应用研究。2007 年获中科院大学遗传学博士学位,曾任新加坡国立大学淡马锡生命科学研究院虫媒病毒实验室主任。在国际重要学术刊物如 *Science Advances*、*Nature Communications*、*Plant Cell*、*PLoS Pathogens*、*Journal of Virology* 等发表论文 50 余篇,授权 PCT 专利 4 项并均获得转让。



张璇 中国科学院微生物研究所博士后,2018 年于中国农业大学获得理学博士学位(微生物学),2018 年至今于中国科学院微生物研究所从事博士后工作。博士期间主要研究磷酸化修饰在病毒侵染过程中的作用机制,博士后期间主要研究方向包括:(1) 主要环境因子调控病毒—媒介昆虫—植物三者互作;(2) 反向病原学研究。相关工作在 *New Phytologist*、*Molecular Plant-Microbe Interactions*、*PLoS Pathogens* 等学术期刊上发表。

收稿日期:2020-03-28;修回日期:2020-04-09

\* 通信作者,Email:jianye@im.ac.cn

本文受到国家自然科学基金重点项目(31830073)、面上项目(31672001)和青年科学基金项目(31901853)的共同资助。

发展。由于媒介昆虫个体小、隐蔽性强,可以利用不同机制传播不同植物病毒,并且通过病毒进化、寄主转变、混合侵染和远距离传播产生新型病毒,形成连续的病毒病害,因此虫媒病毒病害防治难度大。虫媒病原不仅造成直接作物感染,而且介体昆虫的爆发还造成间接危害,形成病害和虫害的“双重”危机。目前对虫媒病害的防治主要依赖化学杀虫剂,但化学农药的过量使用导致害虫抗药性增加、环境污染与农药残留等问题频发,严重影响了人们的生活环境和食品安全,因此迫切需要探索更加环保可持续的绿色防控策略。

以往研究作物病毒病害往往偏重于病原、昆虫和作物三个方面,而实际上参与病害发生及流行的生物因子还有作物内生菌、昆虫共生菌、非介体昆虫(天敌昆虫)以及其他病原菌,同时还有许多外界因素包括光照、温度、湿度、农药以及化肥等的影响(图1)。作物和昆虫的微生物组,包括各种病原菌和益生菌等,其他非媒介昆虫、天敌昆虫等都参与这个三者互作过程中。除了生物因素,农业生态系统是人为干涉较多的系统,包括农药的使用、栽培管理(肥)以及其他一些如光照、降水等不可控环境因子,均会对三者互作系统产生直接或者间接的作用,这些非生物因子可以认为是三者互作的外围系统因子。因此,研究虫媒病害循环中病原—昆虫—植物这三种生命形式互作的分子信号及分子机制,是发展高效绿色防控策略的理论基础,是我国粮食安全、农业生物安全和农业可持续发展的有利保障。

## 1 病原—昆虫—植物三者互作的研究现状

近年来,随着分子生物学和组学研究的飞速发展、微观生物学技术和理念对宏观生物学的快速渗透与交叉、基因组编辑技术的快速发展,病原—昆虫—植物三者互作机制的研究取得了诸多重要进展,在寻找病毒病害流行爆发的宏观生态学现象背后的分子生物学与生物化学机制上取得了长足进步,从而为新型虫媒病害的持久防控技术发展提供了科学依据和潜在新方案。

### 1.1 植物挥发物在病原—昆虫—植物三者互作中的研究

植物可以产生多种次级代谢产物,当植物受到植食昆虫的攻击后会释放一些刺激性挥发物质,通过嗅觉效应趋避有害昆虫,这些植食动物诱导植物产生的挥发物(herbivore-induced plant volatiles, HIPVs)主要包含萜类化合物、脂肪酸衍生物、苯丙烷和苯类化合物,这些挥发物可以释放在植物的受损部位,也可

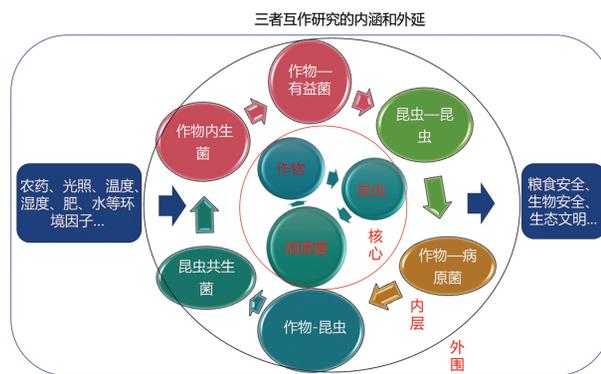


图1 三者互作的核心、内层和外围

以释放在未受损的器官和部位<sup>[2]</sup>。不同的植食昆虫对HIPVs的行为反应有所不同。例如,特定HIPVs对一些昆虫是排斥作用,包括蚜虫、烟粉虱、红蜘蛛或飞蛾;而对另一些昆虫是吸引作用,比如甲虫。因此,植食昆虫对植物的侵袭也会导致其他昆虫的反应不同<sup>[2]</sup>。例如,当渐窄叶烟草(*Nicotiana attenuata*)受到盲蝽(*Tupiocoris notatus*)的侵袭后,尽管植物会受到一定程度的损害,但其释放的HIPVs会通过招募天敌昆虫增加植物对另一种更具破坏性的植食昆虫烟草天蛾(*Manduca sexta*)的抵抗力<sup>[3]</sup>。这就说明植物释放的HIPVs是生态系统中动植物协同进化中的关键信息化合物。植物与昆虫通过这些信息化合物“识别”与“反识别”的“军备竞赛”,影响彼此的行为、生理活动及至生长发育过程。

在病原—昆虫—植物三者互作的过程中,植物会产生一系列的化学挥发物来调控昆虫的行为,趋避植食昆虫或吸引其天敌。萜烯类化合物是植物挥发物中最丰富的一类化合物,研究报道倍半萜和单萜会影响昆虫的取食行为,包括(E)- $\alpha$ -香草烯、(E)- $\beta$ -丁香烯、芳樟醇等<sup>[4]</sup>。病原可以通过感染植物并改变植物代谢过程,从而操纵植物挥发物的释放来调节介体昆虫的取食行为。例如,萜类化合物对烟粉虱(*Bemisia tabaci*)具有直接的防御作用,而其传播的中国番茄黄化曲叶病毒(*Tomato yellow leaf curl China virus*, TYLCCNV)及其 $\beta$ 卫星侵染烟草后,可以抑制倍半萜(E)- $\alpha$ -香草烯的合成,这就减弱了植物对烟粉虱的抗性,有利于烟粉虱取食带毒植物,从而促进病毒的传播<sup>[5]</sup>。芳樟醇是西花蓟马的有效趋避剂,而番茄斑萎病毒(*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)侵染烟草或者辣椒后,可以减少植物释放的芳樟醇含量,从而有利于其介体昆虫西花蓟马的取食<sup>[6]</sup>。此外,水杨酸甲酯对柑橘木虱具有吸引力,在其传播的黄龙病菌感染的柑橘中水杨

酸甲酯的含量明显多于未感染的植物,因此表现为感染的植物更加吸引柑橘木虱<sup>[7]</sup>。

目前关于植物挥发物信号通讯在三者互作中作用的研究可以用于农业生产,但直到近期才有一些可用的策略被推出,并获得了一定的效果。因此,研究者提出几种可开发利用的防控策略:(1)人工合成的挥发性化学物质,可以影响植食昆虫行为;(2)提取天然的植物挥发物或者化学合成挥发物,作为昆虫的趋避剂或者引诱剂,用于趋避有害昆虫,或者将其引诱到特定位置用于集中消灭,从而切断病毒的传播途径;(3)培育诱饵植物促进不同挥发物的释放,从而影响有害昆虫,吸引有益昆虫;(4)利用植物挥发物开发气味传感器以监测病虫害。这些方法之间并不冲突,在农业生产的过程中可以组合使用,可能效果更佳<sup>[4]</sup>。

## 1.2 植物激素在病原—昆虫—植物三者互作中的研究

植物激素在植物应对外界生物胁迫和非生物胁迫的过程中发挥着重要作用,它们通过错综复杂的信号网络来响应不同的外界环境<sup>[8, 9]</sup>。在植物体内有许多植物激素途径参与植物生理、病理的各个过程,包括植物的生长发育和病原物的防御反应。其中水杨酸(salicylic acid, SA)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)和乙烯(ethylene, ET)主要参与植物对病原物的防御作用<sup>[10]</sup>;而生长素(auxin, Aux)、赤霉素(gibberellins, GA)、细胞分裂素(cytokinins, CK)、油菜素类固醇(brassinosteroids, BR)和脱落酸(abscisic acid, ABA)在植物防御过程中也起作用,但主要参与植物的生长发育过程<sup>[11, 12]</sup>。其中JA途径在植物防御病原物和植食性昆虫的过程中发挥重要作用。当植物受到伤害或昆虫取食时,JA途径被激活,促使下游转录因子的激活包括MYC、MYB、AP2/ERF和WRKY等,从而调控目的基因的表达,进一步调控植物生长发育过程以及植物抗病虫害等防御反应<sup>[13]</sup>。

尽管植物具备如此复杂的防御机制,但植食昆虫和病原物也进化出不同的反防御策略来抵抗植物的抗性反应,包括间接作用和直接作用。众所周知,植物水杨酸途径和茉莉酸途径存在拮抗作用,菜粉蝶(*Pieris brassicae*)和扶桑绵粉蚧(*Phenacoccus solenopsis*)可以通过提高SA的水平,间接抑制JA的积累量,进一步抑制植物对昆虫的抗性反应<sup>[14, 15]</sup>。目前研究最为广泛是病原物或者昆虫直接作用植物的JA信号途径,从而抑制植物的抗病

抗虫反应。例如,TYLCCNV伴随的 $\beta$ 卫星编码的 $\beta$ C1蛋白可以直接与JA信号途径中的关键转录因子MYC2互作,通过抑制其二聚体的形成来抑制其转录活性,从而抑制下游萜烯合酶基因的表达,表现为病毒侵染的植物更加吸引烟粉虱,有利于病毒的进一步传播<sup>[5]</sup>。此外,无DNA卫星的番茄黄化曲叶病毒(*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV),编码的C2蛋白可以与植物泛素RPS27a互作从而抑制JAZ1蛋白的降解,最终抑制MYC2-介导的萜烯合酶基因表达<sup>[16]</sup>。除了植物DNA病毒外,RNA病毒也可以直接作用于JA信号途径中的关键蛋白。例如负义RNA病毒TSWV编码的非结构蛋白NSs可以与JA信号途径中的MYC2、MYC3、MYC4直接互作,从而抑制植物对介体昆虫西花蓟马(*Frankliniella occidentalis*)的抗性反应<sup>[6]</sup>。另外,正义RNA病毒黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)编码的2b蛋白可以与JAZs蛋白直接互作,通过抑制JAZs蛋白降解抑制JA抗性途径,因此CMV侵染的植物更加吸引其介体昆虫蚜虫,同时myc234三突变体的拟南芥植物也更加吸引蚜虫<sup>[17]</sup>。以上这些结果表明,JA-MYC信号途径在病原—昆虫—植物三者互惠共生的过程中发挥重要的作用,而且在不同的病原物与寄主中,该信号途径是病毒的保守靶点<sup>[18]</sup>。因此,可以利用基因编辑技术改造植物中JA-MYC信号途径,打破这种稳定的互惠共生关系,从而起到抗病抗虫的作用。

## 1.3 自然环境在病原—昆虫—植物三者互作中的研究

在田间,虫媒病害的发生和流行受许多外界环境因素的影响,包括光照条件、气候变化、昼夜节律、温度和湿度等。一方面,外界环境可以影响植物的抗性反应,包括PTI(pattern-triggered immunity)、RNA沉默途径以及植物激素抗性途径;另一方面,外界环境还可以影响病原物的致病能力,包括病原物的存活与繁殖能力、毒力蛋白的活性以及毒素的产生能力<sup>[19]</sup>。

目前影响病原—昆虫—植物三者互作的主要外界因素包括光照条件、温度以及CO<sub>2</sub>浓度。光作为最重要的能量来源,不仅可以直接调节植物对病原物的抗性反应,也可以间接影响其介体昆虫的取食行为。研究表明在植物—病原物互作的过程中,阴暗条件(Shade)可以增加许多病原物的侵染能力,而在自然生态系统中,高密度的阴暗条件可以显著增加植物病害的严重程度,这些证据表明光照可以增

强植物对病原物的防御能力<sup>[20]</sup>。同时,光照可以间接调控植物对昆虫的抗性反应,可以通过影响病原物在植物上的致病能力,来调节植物次生代谢产物的产生(例如:萜烯类化合物),进而影响介体昆虫的取食行为<sup>[21]</sup>。例如,在光照条件下,与未侵染的菜豆相比,大豆花叶病毒(*Soybean mosaic virus*, SMV)和豆荚斑驳病毒(*Bean pod mottle virus*, BPMV)侵染的菜豆更加吸引其介体昆虫墨西哥豆甲虫(*Phaseolus vulgaris*)<sup>[22]</sup>。同样的,在光照条件下番茄褪绿病毒(*Tomato chlorosis virus*, ToCV)和番茄严重皱褶病毒(*Tomato severe rugose virus*, ToSRV)感染的番茄也更加吸引介体昆虫烟粉虱,但这种昆虫选择偏好性在黑暗条件下并不会发生,这就表明光照在病原—昆虫—植物三者互作的过程中发挥重要的作用。

人类社会行为很大程度影响了大气环境,随着大气中 CO<sub>2</sub> 浓度的提高和温室效应的增加,全球的温度也逐渐升高,这对于三者互作也产生了一定程度的影响。对于每种植物—病原菌的相互作用,都有一个最佳的温度范围。例如,15℃最适合于马铃薯白线虫(*Globodera pallida*)感染马铃薯;白天温度为 35℃,夜间温度为 27℃最有利于水稻黄单胞菌(*Xanthomonas oryzae*)在水稻上定殖;而温度在 26~31℃是木瓜环斑病毒(*papaya ringspot virus*, PRSV)感染木瓜的最适温度<sup>[19]</sup>。在病原—昆虫—植物三者互作的过程中,温度可以通过影响介体昆虫来影响病害的发病率和/或严重程度。例如,香蕉束顶病毒(*Banana bunchy top virus*, BBTV)通过香蕉蚜(*Pentalonia nigronervosa*)传播,这种蚜虫在 25℃发育最快,具有最高繁殖能力和最低死亡率,这就可以解释为什么 25℃不是 BBTV 复制的最佳温度,却是 BBTV 传播与流行的最适温度<sup>[23, 24]</sup>。对于许多植物病害,由于植物自身不能运动,媒介昆虫种群生存和繁殖的最适温度与病害的流行密不可分,因此,综合考虑昆虫的生活习性、对病害的发生进行的预测和分析、及时采取防控措施非常重要。

全球大气中的 CO<sub>2</sub> 浓度急剧增加也大大影响了虫媒病害的传播。例如,在小麦—大麦黄矮病毒(*Barley yellow dwarf virus*, BYDV)—禾谷缢管蚜(*Rhopalosiphum padi*)互惠共生的过程中,与未侵染的植物相比,提高 CO<sub>2</sub> 浓度后,介体昆虫蚜虫在 BYDV 侵染的植物中的存活率和繁殖率更高,有利于病毒的传播<sup>[25]</sup>。此外,CO<sub>2</sub> 浓度的升高可以通过影响植物激素诱导的抗性途径来改变植物对病毒

和媒介昆虫的抵抗力<sup>[26]</sup>。

以上研究结果表明,我们可以通过物理方法改变光照条件(例如:LED 单色光灯箱)、外界环境温度以及 CO<sub>2</sub> 浓度,从而破坏病原—昆虫—植物三者互惠共生的关系,继而抑制病毒的进一步传播与扩散。

## 2 目前研究的主要科学问题

### 2.1 效应蛋白(effector)对植物早期免疫反应的影响及其机制

在病原—昆虫—植物互作的过程中,主要包括三道屏障:第一道屏障,植物与昆虫的化学通讯,主要是指植物通过气体挥发物调控昆虫的行为;第二道屏障,病原/昆虫—植物互作,主要是指病原/昆虫的效应子蛋白识别植物蛋白,并调控植物的免疫反应;第三道屏障,病原—昆虫—植物互作,主要是指病原影响信号途径下游调控蛋白的转录与合成,从而影响介体昆虫的取食行为和寄主选择。目前关于三者互作的研究主要集中于第一道屏障和第三道屏障,关于病原/昆虫的效应子蛋白如何识别植物早期免疫途径的关键蛋白,调控植物早期免疫反应的研究较少,例如效应蛋白与受体的识别、Ca<sup>2+</sup> 信号的传导、活性氧的迸发以及 MAPK(mitogen-activated protein kinase)信号级联反应。目前已在不同种类的蚜虫中鉴定到一些唾液效应子蛋白,但是仅有少数蛋白被证明可以参与植物—昆虫的互作过程。例如,在桃蚜中鉴定到的效应子 PIntO1(Mp1)和 PIntO2(Mp2)可以促进蚜虫在拟南芥上定殖,但是在桃蚜中筛选出的效应子 Mp10 和 Mp42 可以降低蚜虫的繁殖能力<sup>[27]</sup>。此外,在烟粉虱的唾液效应蛋白(*B. tabaci* salivary effector proteins, Bsp)中鉴定到的 Bsp9 可以抑制植物的天然免疫反应,进一步研究发现 Bsp9/Bt56 可以攻击免疫下游调节因子转录因子 WRKY33 和 NTH202 直接互作,可能通过干扰 WRKY33 和 MAPK 信号调节因子 MPK6 之间的互作来抑制植物的免疫反应,从而有利于 TYLCV 病毒的侵染<sup>[28, 29]</sup>。同时,昆虫蛋白也会影响病毒的复制侵染,近期研究表明烟粉虱 HESH1(hairy and enhancer of split homolog-1)可以通过结合 TYLCCNV 的基因间区促进病毒基因转录<sup>[30]</sup>。关于病原中的效应蛋白,研究发现黄龙病菌的效应蛋白 SDE1(Sec-delivered effector 1)可以与柑橘半胱氨酸蛋白酶 PLCPs(Papain-like cysteine proteases)互作,通过抑制其蛋白酶活性抑制植物的

防御反应<sup>[31]</sup>。近期研究表明双生病毒的  $\beta$ C1 蛋白可以靶标植物免疫途径中的 MKK2 和 MPK4, 通过抑制其激酶活性抑制植物的抗性反应<sup>[32]</sup>。尽管如此, 目前关于不同病原菌以及昆虫中效应蛋白的鉴定以及机制研究仍较少, 这将进一步促使我们全面理解病原/昆虫是如何通过调控植物早期免疫反应来促进病毒的传播, 并实现病害的入侵与传播。基于以上研究, 我们可以开发一些天然来源的免疫调节剂(例如植物来源的小分子化合物、受体蛋白类似物、 $\text{Ca}^{2+}$  信号激活剂等等)来增强植物的抗性, 从而起到抗病抗虫的作用。

## 2.2 虫媒病原对非介体昆虫(天敌昆虫)行为的影响及其机制

在自然生态系统中植食昆虫的种类繁多, 不仅存在病毒的介体昆虫, 也存在非介体昆虫或者天敌昆虫。那么这些昆虫是否会影响病原—昆虫—植物的三者互作呢? 病毒是如何区分不同的昆虫与寄主植物之间的特异互作, 促进自身的传播呢? 我们实验室发现菜豆金色花叶病毒属(*Begomovirus*)的木尔坦棉花曲叶病毒(*Cotton leaf curl Multan virus*, CLCuMuV)和 TYLCCNV 侵染植物以后, 有利于其介体昆虫烟粉虱的取食, 而抑制非介体昆虫(棉铃虫和蚜虫)的取食。进一步的研究发现, 在病毒侵染的植物中,  $\beta$ C1 蛋白在韧皮部大量积累, 并与转录因子 WRKY20 互作, 通过抑制其二聚体的形成抑制其转录活性, 从而影响下游调控基因的表达, 促进烟粉虱的取食与存活, 抑制非介体昆虫棉铃虫和蚜虫的取食<sup>[33]</sup>。此外, 在多层营养级生物互作中, 天敌在介体昆虫控制中发挥着重要的作用。这些天敌的行为能否响应病毒感染寄主植物导致的代谢变化? 这些变化响应的机制是什么? 我们近期的研究表明 TSWV 侵染的辣椒更加吸引其介体昆虫西花蓟马的取食, 但是会抑制其天敌昆虫东亚小花蝽(*Orius sauteri*)的取食, 这其中的具体机制尚不清楚(未发表数据)。这种病毒与食草昆虫(介体昆虫和非介体昆虫)之间的相互作用在自然生态系统和农业生产中广泛存在, 也是我们在农业生态系统中应用天敌昆虫来控制病虫害发生需要着重考虑的因素。目前关于这方面的研究甚少, 以至于我们在防控过程中经常会因为其他昆虫的干扰而得不到预期结果。所以我们应该重视这些非介体昆虫和天敌昆虫在三者互作过程的作用, 或者病毒如何干扰这些昆虫参与病原—介体昆虫—植物之间的互惠共生, 这对我们在田间有效防控虫媒病害具有重要的指

导意义, 有利于实现绿色植保和农业的可持续发展目标。

## 2.3 根际微生物—病原—昆虫—植物多元互作的研究

根际微生物是指紧密附着于根际土壤颗粒中的微生物, 土壤微生物具有丰富的多样性。植物生长过程中, 凋亡的根系及其脱落物(根毛、表皮细胞、根冠等)、分泌物是根际微生物重要的营养和能量来源, 因此不同植物的根际微生物组成和数量也明显不同, 主要包括细菌和真菌<sup>[34]</sup>。植食昆虫可以从植物中吸取有益微生物, 而植物又可以吸取根际土壤微生物中的有益微生物, 因此植食昆虫可以通过植物间接吸取来自土壤的微生物, 这些微生物可能会作为病原引起昆虫的疾病, 也可能有益于昆虫的防御反应、排毒或者食物的消化。一些研究表明植食昆虫可以从环境中或者土壤中直接吸收一些特异的共生细菌, 而且土壤微生物组的变化可以导致昆虫体内微生物的变化, 最终影响昆虫的行为, 这可能是通过植物微生物改变间接引起的, 也可能是土壤微生物—昆虫互作直接引起的<sup>[35]</sup>。

根际微生物也会影响植物的生长发育和抗性反应。研究表明番茄品种 Hawaii7996 对土传病原青枯菌(*Ralstonia solanacearum*)具有抗性, 而 MoneyMaker 品种对青枯菌感病。为了探索根际微生物是否在番茄抗病性中起作用, 分析了抗性品种和感病品种的根际微生物群, 发现在这两种植物中的微生物群落结构显著不同, 而且将抗性植物的根际微生物转移至感病植物时, 可以抑制青枯菌感染的症状, 这就说明根际微生物的改变可以增强感病番茄的抗性反应<sup>[36]</sup>。但是, 目前关于根际微生物的研究只集中于植物—昆虫、植物—病原体两者互作, 根际微生物在病原—昆虫—植物三者互作的研究鲜有报道<sup>[37]</sup>。深入探索根际微生物在病原—昆虫—植物三者互惠共生过程中发挥的作用及其机制, 有利于我们发现并了解天然的有益微生物在虫媒病害传播过程中的作用, 为我们利用有益微生物防控虫媒病害开辟了新的道路。

## 2.4 木本经济作物病原物—昆虫—寄主互作机制研究

柑橘黄龙病、衰退病等虫媒木本病害严重影响木本经济作物的高产稳产, 其绿色防控和生态调控技术的发展对于我国和世界农业经济发展、农民增收和农村稳定具有重要意义。目前对于危害柑橘产量的黄龙病的管理, 主要是靠施用杀虫剂减少其介

体昆虫柑橘木虱的数量,或者挖除具有感病症状的柑橘树以消除病原,尚无高效的防控策略。因此我们需要寻找更高效更环保的虫媒病害防治方法。这类三者互作研究对象均为非模式系统,分子机制研究难度极大,建议我国集中优势力量,进行协同攻关,对下面研究内容重点布局:(1) 虫媒与所传病原微生物对多年生寄主植物的协同致灾效应;(2) 系统研究虫媒与寄主植物之间的化学通讯机制,揭示健康与感虫寄主化学通讯相关的基因调控、虫媒与多年生寄主植物之间协同的分子机制;(3) 研究虫传系统性病害病原遗传多样性和毒性变异的分子机制,介体对病原的内在应答及病原对介体种群适合度的影响,揭示虫媒与病原间对多年生寄主植物的协同致灾效应;(4) 鉴定介体内与传毒和病原参与传播的决定因子,研究介体与寄主间的化学通讯机制,病原—寄主互作为寄主化学信息基因改良及干扰介体通讯识别、绿色治理提供科学依据,探明重大病害的起源、进化和扩散路径以及暴发成灾的关键因子。

### 2.5 基因组编辑技术在虫媒病害防治中的应用

目前由于缺少高效抗病基因及种质资源,对虫媒病害的防治主要是使用杀虫剂。近年来,随着基因组编辑(Genome editing)技术的不断发展,其被广泛应用于虫媒病害的防治和抗病品种的培育中。研究人员利用 CRISPR/Cas9 特异识别病毒和外源 DNA 的特性,在植物中建立了一套 DNA 病毒防御体系。该研究以甜菜严重曲顶病毒(*Beet severe curly top virus*, BSCTV)为模式病毒,分别选取模式植物本生烟和拟南芥为寄主材料,在植物中建立了新型、简易、高效的双生病毒防御体系<sup>[38]</sup>。同样的,Baltes 等以菜豆黄矮病毒(*Bean yellow dwarf virus*, BeYDV)为研究对象利用 CRISPR/Cas9 系统使植物获得了类似的抗病效果<sup>[39]</sup>。虽然利用 CRISPR/Cas9 技术在植物抗双生病毒方面已经获得一些进展,但是这些均具有病毒特异性,因此我们需要寻找具有广谱抗性的寄主蛋白,通过基因组编辑技术编辑植物抗性途径中的关键蛋白,例如上述 JA 信号途径、靶标 RNA 的抗性途径<sup>[40]</sup>、自噬途径<sup>[41-43]</sup>以及关键蛋白激酶<sup>[44-46]</sup>,从而使得植物获得广谱抗性。例如,在我们前期的研究中发现拟南芥 AS2 (ASYMMETRIC LEAVES2) 基因是一个植物内源的基因沉默抑制子,可以抑制植物的转录后基因沉默(Post-transcriptional gene silencing, PTGS), *as2* 突变体可以增强植物对双生病毒的抗性,而

AS2 过表达植物则更加感病<sup>[47]</sup>。因此,也可以通过基因组编辑技术敲除感病基因使植物获得抗性。

### 2.6 三者互作的进化动力及机制

病原—昆虫—植物三者互作是一个复杂而又特异的关系,病原因为在复制或者传播的过程容易发生变异,常常成为三者互作进化的主要推动者,通过改变植物的抗性反应和介体昆虫的取食行为,最终有利于病原的传播<sup>[48]</sup>。病原又可以同介体昆虫互作,多种病毒和细菌能够顺利穿透中肠屏障,在昆虫体内完成巡回侵染直接影响昆虫的存活与繁殖,甚至能够经卵传播<sup>[49, 50]</sup>;病原也可以通过与植物寄主互作,通过其毒力因子克服植物免疫防御,增强其复制能力,而且也能利用编码的基因沉默抑制子克服植物的基因沉默等防卫反应。这些病原对植物生理生化过程的重编程,触发了植物代谢流的重分配,并引起了植物初级代谢和次级代谢的改变,例如氨基酸、糖类、黄酮类、挥发物等的合成和代谢,这些过程的改变直接影响了介体昆虫在感病植物上的取食行为和寄主选择。研究表明,与 2015 年之前报道的斯里兰卡木薯花叶病毒(*Sri Lankan cassava mosaic virus*, SLCMV)相比,2015 年之后报道的 SLCMV 株系编码的复制酶蛋白 C 端均缺少 7 个氨基酸,进一步研究发现这 7 个氨基酸的缺失导致病毒的复制能力下降、病毒侵染所致症状减缓、植物的抗性反应降低,因而使得病毒不易被植物清除,可以长期潜伏在植物体内,而且植物抗性反应的减弱可能更加有利于昆虫的取食。从进化的角度来看,这些病毒的变异可能更易于传播与流行<sup>[51, 52]</sup>。同理,感病植物代谢的改变对于整个农业生态系统中其他生态因子的影响也需要被深入研究,例如天敌昆虫、寄生蜂等高营养级生物的行为变化,这些生态因子对三者互作的影响虽然显而易见,但是至今其分子机制的研究仍很缺乏,特别是关键的植物分子和调控基因尚不清楚,病原如何通过调控这些植物寄主因子? 病原如何平衡致病力和病原植物间传播能力,从而促进其病害流行? 目前已知有两种超级介体昆虫烟粉虱和西花蓟马传播的病毒是研究三者互作进化的很好模型,通过对这种复杂关系的系统研究,有利于我们全面理解媒介昆虫传播植物病原的具体机制,为我们防控虫媒病害提供新的思路。

## 3 结语与展望

虫媒病害严重制约着我国的农业生产,目前关

于虫媒病害的防治主要是通过化学杀虫剂消灭介体昆虫,这就导致一系列环境污染以及食品安全的问题,因此需要开发新的绿色防控策略来控制虫媒病害的流行与传播。现阶段关于病原—昆虫—植物三者互作的研究主要集中于植物挥发物和下游植物抗性途径的研究,但病毒对植物早期免疫反应的调控作用、天敌昆虫和根际微生物在三者互作的作用以及病原—昆虫—植物三者协同进化的机制仍需进一步突破。此外,目前需要在以下几个方向进行初步探索:(1)探索虫媒病毒全生活史的新方法研究;(2)发展潜在虫媒病害预警技术;(3)病害发生的多元生物体系互作机制及科学防控科技支撑能力建设;(4)基因组编辑创建虫媒病害绿色防控的技术等。力求在虫媒病害绿色生态防控方面为农业提供强有力的科技创新和支撑能力。

在现代集约农业实践中,大数据技术、人工智能技术的大量实践,促进农药的合理使用、栽培措施的不断改进、光照条件和水肥条件的优化,为利用农业手段提高抗虫媒病害的能力提供了绝佳机会。这些新的社会变化趋势要求将这些因子纳入到三者互作系统进行整合研究,能够直接通过宏观手段对微观机制进行干预,从而实现可观的绿色农产品的产出。整合三者互作核心—内层—外围的研究将是未来的植物保护研究领域新的方向和发力抓手。

### 参 考 文 献

- [1] 叶健, 龚雨晴, 方荣祥. 病毒—昆虫—植物三者互作研究进展及展望. 中国科学院院刊, 2017, (08): 47—57.
- [2] Dicke M, Baldwin IT. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the ‘cry for help’. *Trends in Plant Science*, 2010, 3(15): 167—175.
- [3] Kessler A, Baldwin IT. Herbivore-induced plant vaccination. Part I. The orchestration of plant defenses in nature and their fitness consequences in the wild tobacco *Nicotiana attenuata*. *The Plant Journal*, 2004, 38(4): 639—649.
- [4] Turlings TCJ, Erb M. Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: mechanisms, ecological relevance, and application potential. *Annual Review of Entomology*, 2018, 63: 433—452.
- [5] Li R, Weldegergis BT, Li J, et al. Virulence factors of geminivirus interact with MYC2 to subvert plant resistance and promote vector performance. *The Plant Cell*, 2014, 26(12): 4991—5008.
- [6] Wu XJ, Xu S, Zhao PZ, et al. The Orthotospovirus nonstructural protein NSs suppresses plant MYC-regulated jasmonate signaling leading to enhanced vector attraction and performance. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(6): e1007897.
- [7] Mann RS, Ali JG, Hermann SL, et al. Induced release of a plant-defense volatile ‘Deceptively’ attracts insect vectors to plants infected with a bacterial pathogen. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(3): e1002610.
- [8] Collum TD, Culver JN. The impact of phytohormones on virus infection and disease. *Current Opinion in Virology*, 2016, 17: 25—31.
- [9] Alazem M, Lin N-S. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 16(5): 529—540.
- [10] Derksen H, Rampitsch C, Daayf F. Signaling cross-talk in plant disease resistance. *Plant Science*, 2013, 207: 79—87.
- [11] Robert-Seilaniantz A, Grant M, Jones JDG. Hormone crosstalk in plant disease and defense: more than just JASMONATE-SALICYLATE antagonism. *Annual Review of Phytopathology*, 2011, 49: 317—343.
- [12] Durbak A, Yao H, McSteen P. Hormone signaling in plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 2012, 15(1): 92—96.
- [13] Pauwels L, Goossens A. The JAZ Proteins: A crucial interface in the jasmonate signaling cascade. *The Plant Cell*, 2011, 23(9): 3089—3100.
- [14] Zhang PJ, Huang F, Zhang JM, et al. The mealybug phenacoccus solenopsis suppresses plant defense responses by manipulating JA-SA crosstalk. *Scientific Reports*, 2015, 5: 9354.
- [15] Schmiesing A, Emonet A, Gouhier-Darimont C, et al. Arabidopsis MYC transcription factors are the target of hormonal salicylic acid/jasmonic acid cross talk in response to *Pieris brassicae* egg extract. *Plant Physiology*, 2016, 170(4): 2432—2443.
- [16] Li P, Liu C, Deng WH, et al. Plant begomoviruses subvert ubiquitination to suppress plant defenses against insect vectors. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(2): e1007607.
- [17] Wu DW, Qi TC, Li WX, et al. Viral effector protein manipulates host hormone signaling to attract insect vectors. *Cell Research*, 2017, 27(3): 402—415.
- [18] Wu XJ, Ye J. Manipulation of jasmonate signaling by plant viruses and their insect vectors. *Viruses*, 2020, 12(2): 148.
- [19] Velásquez AC, Castroverde CDM, He SY. Plant-pathogen warfare under changing climate conditions. *Current Biology*, 2018, 28(10): R619—R634.
- [20] Ballaré CL. Light Regulation of plant defense. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 65: 335—363.

- [21] Cortés LE, Weldegergis BT, Boccalandro HE, et al. Trading direct for indirect defense? Phytochrome B inactivation in tomato attenuates direct anti-herbivore defenses whilst enhancing volatile-mediated attraction of predators. *New Phytologist*, 2016, 212(4): 1057—1071.
- [22] Musser RO, Hum-Musser SM, Felton GW, et al. Increased larval growth and preference for virus-infected leaves by the mexican bean beetle, *epilachna varivestis* mulsant, a plant virus vector. *Journal of Insect Behavior*, 2003, 16(2): 247—256.
- [23] Robson JD, Wright MG, Almeida RPP. Biology of *pentalonia nigronervosa* (Hemiptera, Aphididae) on banana using different rearing methods. *Environmental Entomology*, 2007, 36(1): 46—52.
- [24] Anhalt, MD, Almeida, RPP. Effect of temperature, vector life stage, and plant access period on transmission of Banana bunchy top virus to Banana. *Phytopathology*, 2008, 98(6): 743—748.
- [25] Trebicki P, Vandegeer RK, Bosque-Pérez NA, et al. Virus infection mediates the effects of elevated CO<sub>2</sub> on plants and vectors. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22785.
- [26] Guo HG, Wan SF, Ge F. Effect of elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on phytohormone-mediated plant resistance to vector insects and insect-borne plant viruses. *Science China Life Sciences*, 2017, 60(8): 816—825.
- [27] Elzinga DA, Jander G. The role of protein effectors in plant-aphid interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 2013, 16(4): 451—456.
- [28] Wang N, Zhao PZ, Ma YH, et al. A whitefly effector Bsp9 targets host immunity regulator WRKY33 to promote performance. *Philosophical Transactions of the royal Society B Biological Sciences*, 2019, 374(1767): 20180313.
- [29] Xu HX, Qian LX, Wang XW, et al. A salivary effector enables whitefly to feed on host plants by eliciting salicylic acid-signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 2019, 116(2): 490—495.
- [30] Wang YM, He YZ, Ye XT, et al. Whitefly HES1 binds to the intergenic region of Tomato yellow leaf curl China virus and promotes viral gene transcription. *Virology*. 2020, 542: 54—62
- [31] Clark K, Franco JY, Schwizer S, et al. An effector from the Huanglongbing-associated pathogen targets citrus proteases. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 1718.
- [32] Hu T, Huang C, He Y, et al.  $\beta$ C1 protein encoded in geminivirus satellite concertedly targets MKK2 and MPK4 to counter host defense. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(4): e1007728.
- [33] Zhao P, Yao X, Cai C, et al. Kliebenstein DJ, Liu SS, Fang RX, Ye J. Viruses mobilize plant immunity to deter nonvector insect herbivores. *Science Advances*, 2019, 5(8): eaav9801.
- [34] 陆雅海, 张福锁. 根际微生物研究进展. *土壤*, 2006, 38(2): 113—121.
- [35] Sugio A, Dubreuil G, Giron D, et al. Plant-insect interactions under bacterial influence: ecological implications and underlying mechanisms. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(2)(SI): 467—478.
- [36] Kwak MJ, Kong HG, Choi K, et al. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(11): 1100—1109.
- [37] 王端, 姚香梅, 叶健. 根际微生物—植物—病毒—介体昆虫多元互作研究进展. *生物技术通报*, 2018, 034(002): 54—65.
- [38] Ji X, Zhang HW, Zhang Y, et al. Establishing a CRISPR-Cas-like immune system conferring DNA virus resistance in plants. *Nature Plants*, 2015, 1(10): 15144.
- [39] Baltés NJ, Hummel AW, Konecna E, et al. Conferring resistance to geminiviruses with the CRISPR-Cas prokaryotic immune system. *Nature Plants*, 2015, 1(10): 15145.
- [40] Li FF, Wang AM. RNA-targeted antiviral immunity: more than just RNA silencing. *Trends in Microbiology*. 2019, 27(9): 792—805.
- [41] Li FF, Zhang MZ, Zhang CW, et al. Nuclear autophagy degrades a geminivirus nuclear protein to restrict viral infection in solanaceous plants. *New Phytologist*. 2020, 225(4): 1746—1761.
- [42] Yang M, Zhang Y, Xie X, et al. Barley stripe mosaic virus  $\gamma$ b protein subverts autophagy to promote viral infection by disrupting the ATG7-ATG8 interaction. *Plant Cell*. 2018, 30(7): 1582—1595.
- [43] Haxim Y, Ismayil A, Jia Q, et al. Autophagy functions as an antiviral mechanism against geminiviruses in plants. *Elife*. 2017, 6: e23897.
- [44] Zhong XT, Wang ZQ, Xiao RY, et al. Mimic Phosphorylation of a  $\beta$ C1 protein encoded by TYLCCNB impairs its functions as a viral suppressor of RNA silencing and a symptom determinant. *Journal of Virology*, 2017, 91(16): e00300-17.
- [45] Zhang X, Dong K, Xu K, et al. Barley stripe mosaic virus infection requires PKA-mediated phosphorylation of  $\gamma$ b for suppression of both RNA silencing and the host cell death response. *New Phytologist*, 2018, 218(4): 1570—1585.
- [46] Hu Y, Li ZG, Yuan C, et al. Phosphorylation of TGB1 by protein kinase CK2 promotes Barley stripe mosaic virus movement in monocots and dicots. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(15): 4733—4747.

- [47] Ye J, Yang JY, Sun YW, et al. Geminivirus activates ASYMMETRIC LEAVES 2 to accelerate cytoplasmic DCP2-mediated mRNA turnover and weakens RNA silencing in Arabidopsis. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(10): e1005196.
- [48] 关桂静, 赵恒燕, 王洪苏, 等. 病毒-植物互作对介体昆虫生物学特性的影响. *生物技术通报*, 2017, 33(4): 44—50.
- [49] Huo Y, Liu WW, Zhang FJ, et al. Transovarial transmission of a plant virus is mediated by vitellogenin of its insect vector. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(3): e1003949.
- [50] Huo Y, Yu YL, Chen LY, et al. Insect tissue-specific vitellogenin facilitates transmission of plant virus. *PLOS Pathogens*, 2018, 14(2): e1006909.
- [51] Wang D, Yao XM, Huang GX, et al. First report of Sri Lankan cassava mosaic virus infected cassava in China. *Plant Disease*, 2019, 103(6): 1437.
- [52] Wang D, Zhang X, Yao XM, et al. A 7-amino-acid motif of rep protein essential for virulence is critical for triggering host defense against Sri Lankan cassava mosaic virus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2020, 33(1): 78—86.

## Development of Cutting-edge Prevention and Control Strategy for Vector-borne Plant Diseases Based on Tripartite Interactions

Zhang Xuan<sup>1</sup> Ye Jian<sup>1,2\*</sup>

1. State Key Laboratory of Plant Genomics/Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101

2. CAS Center for Excellence in Biotic Interactions, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

**Abstract** Vector-borne diseases are the great threat to China's agricultural production, and have caused serious losses to global economic production. Vector insects play an important role in the epidemic and spread of vector-borne diseases. As the available resistance genes against these vector insects and vector-borne diseases are very limited in major crops. At present, the control of vector-borne diseases mainly depends on chemical pesticides, which leads to insect resistance and environmental pollution problems. Therefore, we need to further explore mechanisms of virus-insect-plant mutualism, which lay new theoretical basis for green prevention and control of vector-borne diseases. This article briefly summarizes the major scientific questions and current research status of tripartite interactions. At this stage, it mainly focuses on the function of plant volatiles, plant hormones, and the environmental factors in virus-insect-plant interactions. We propose new research perspectives and raise some of key scientific questions to be answered during tripartite interactions processes. These new studies of tripartite interactions will provide further directions and strong technical supports for green prevention and control of vector-borne diseases in the future.

**Keywords** vector-borne disease; pathogen-insect-plant tripartite interactions; plant volatiles; plant hormones; abiotic stress resistance; green prevention and control

(责任编辑 齐昆鹏 吴妹)

\* Corresponding Author, Email: jianye@im.ac.cn