

文章编号: 1674-7054(2023)04-0399-06



基于多组学的真菌病毒与寄主真菌互作的研究进展

范煜, 何桢锐, 黄晓彤, 杨媚, 周而勋

(华南农业大学 植物保护学院/广东省微生物信号与作物病害防控重点实验室, 广州 510642)

摘要: 阐述了多组学包括代谢组学、转录组学和蛋白组学技术的原理、方法和步骤, 并结合其在弱毒真菌病毒中研究的案例, 全面分析了代谢组学、转录组学和蛋白组学技术在真菌病毒与寄主真菌互作中的研究现状、未来的研究方向以及具备的高灵敏度、高通量优势, 有助于深度探究真菌病毒对寄主真菌的影响及其分子机制, 并为判断真菌病毒能否作为植物真菌病害生物防治因子提供方法和思路。

关键词: 真菌病毒; 多组学技术; 互作研究; 生物防治

中图分类号: S 476; Q 939.5 **文献标志码:** A

引用格式: 范煜, 何桢锐, 黄晓彤, 等. 基于多组学的真菌病毒与寄主真菌互作的研究进展 [J]. 热带生物学报, 2023, 14(4): 399-404, 440. DOI: [10.15886/j.cnki.rdsxb.2023.04.007](https://doi.org/10.15886/j.cnki.rdsxb.2023.04.007)

真菌病毒(Fungal virus 或 Mycovirus)是一种以真菌为寄主, 能在真菌体内进行复制和繁殖的病毒。1962年, Hollings^[1]在栽培的双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)中通过电子显微镜首次发现了3种真菌病毒。20世纪50年代, Grente等^[2]在栗疫病菌(*Cryphonectria parasitica*)中发现, 可以通过菌丝融合的方式将弱毒菌株中的低毒力转染给强毒力菌株, 造成病原真菌的弱毒现象, 于1995年将这种导致其寄主真菌致病力降低的一类无衣壳蛋白的真菌病毒定义为弱毒真菌病毒。近些年来, 随着越来越多的弱毒病毒被发现, 对其侵染过程以及与寄主真菌互作机制的研究也受到更广泛的关注。研究表明, 部分弱毒真菌病毒侵染可造成寄主真菌生长异常以及致病力下降等现象, 病毒的侵染可以改变寄主真菌的转录组、蛋白质组、代谢组和表观基因组等方面的表达水平^[3]。目前, 研究真菌病毒与寄主真菌互作的经典技术包括核酸与核酸互作、核酸与蛋白互作、蛋白与蛋白互作这3种技术类型。而随着后基因组时代的深入, 测序、质谱、生物信息联合分析等技术的进一步发展, 使得高通量筛选生物标记物、寻找生物

关联分子、探索生物之间的影响机制变成可能, 同时对生物间互作技术的应用也提出了更高的要求。近年来, 寄主真菌遗传操作系统和反向遗传学系统的构建, 为弱毒真菌病毒与寄主真菌互作系统的建立提供了科学依据, 涵盖了多种植物致病真菌与其真菌病毒的互作系统^[4]。在真菌病毒与寄主真菌互作系统当中, RNA沉默(RNA silencing, RNAi)作为一种寄主真菌抵御病毒入侵的防御机制, 受到研究人员的广泛关注。目前, 在栗疫病菌、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)和禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)等多种植物致病真菌中先后发现, 真菌病毒的成功侵入与该机制被破坏存在关联^[5-7]。在RNA沉默病毒防御机制中, Dicer蛋白能够对一种具有发卡结构的双链RNA(precursor microRNA)进行识别并将其加工成为miRNA(microRNA), Argonaute蛋白对miRNA进行解旋并释放其中一条单链后形成RNA诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC), 最终通过RNA诱导沉默复合体上的导链与目的基因上的碱基序列进行互补配对, 以实现病毒基因沉默, 达到抵御病毒侵入的目的(图1)^[8]。越

收稿日期: 2022-12-05

修回日期: 2023-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(32072363)

第一作者: 范煜(1994-), 男, 华南农业大学2021级硕士研究生. E-mail: fanyu@stu.scau.edu.cn

通信作者: 周而勋(1963-), 男, 教授, 博士生导师, 博士. 研究方向: 植物病理学与真菌学. E-mail: exzhou@scau.edu.cn

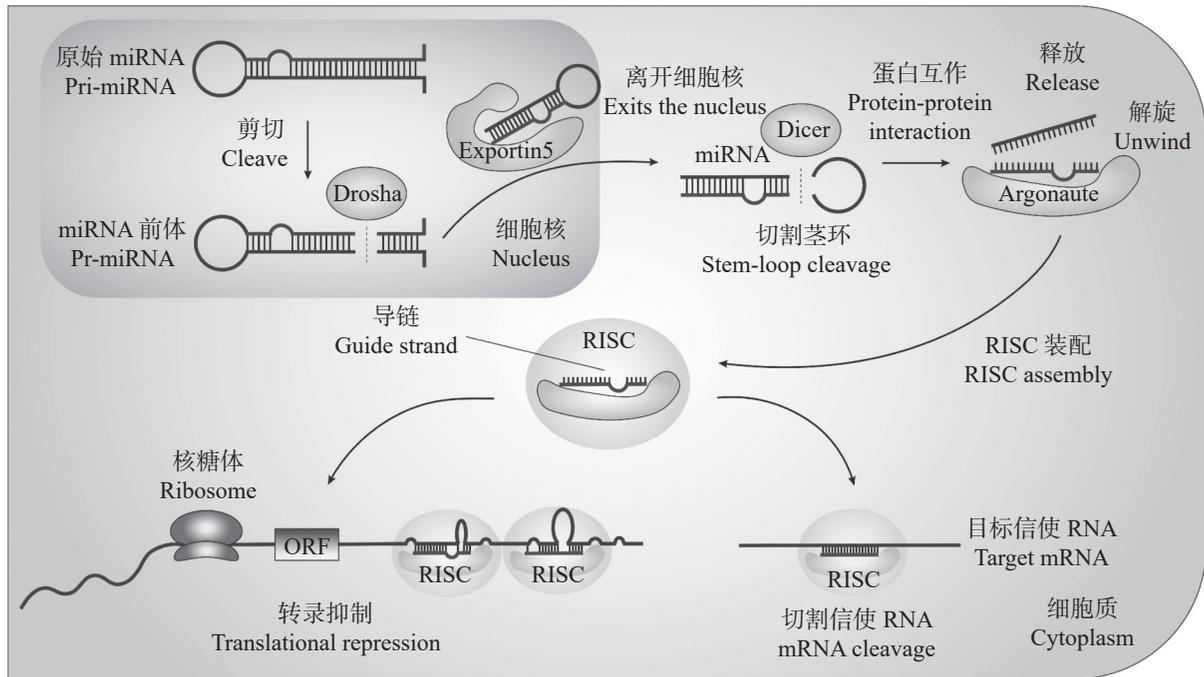


图1 RNA 沉默病毒防御机制示意图^[8]

来越多的研究表明, 寄主真菌的弱毒现象与其 RNA 沉默防御机制受到抑制有关^[9]。深入探索真菌病毒与寄主真菌的互作机制, 了解运用组学技术探究弱毒真菌病毒造成其寄主真菌弱致病力原理的研究进展, 可为植物病原真菌的生物防治提供理论依据。

本综述旨在阐明利用多组学技术揭示真菌病毒与寄主真菌互作的原理, 综述多组学技术研究方法及利用多组学技术探究弱毒病毒与寄主真菌互作的研究进展, 为真菌病毒的利用及病毒与寄主互作的深入研究提供参考。

1 基于转录组学的真菌病毒与寄主真菌互作

1.1 转录组学研究方法

基因在表达上的差异变化是转录调控细胞生命活动的核心机制。转录组学(Transcriptomics)是功能基因组学研究个体基因组的重要组成部分。是一门在整体水平上研究细胞中所有基因转录的情况并揭示转录调控规律的学科^[10]。目前, 转录组主要包括基于杂交技术的微阵列技术(Microarray)和基于测序技术的转录组测序技术(RNA sequencing)2种系统研究技术。在研究真菌病毒与寄主真菌互作过程中, 通常对病毒侵染前后的寄主真菌进行转录组学分析, 识别寄主真菌在被真菌病毒侵染前后和不同

时间阶段的差异表达基因(differentially expressed gene, DEG)。然后通过富集分析、蛋白互作网络分析和转录因子分析等技术手段, 筛选出差异基因, 最终得出真菌病毒影响寄主真菌相关的致病性与寄主真菌关联基因表达的相关性^[11]。

1.2 转录组学技术在研究互作机理中的应用

栗疫病菌的弱毒真菌病毒(CHV1)与栗疫病菌的互作系统是研究真菌病毒与寄主真菌互作关系最为彻底的系统。栗疫病菌抗病毒防御反应是一种 RNA 沉默机制, 触发其机制所需的 Dicer 蛋白基因 *dcl2* 可在真菌病毒侵染时能够被诱导并抑制病毒 RNA 的表达。而栗疫病菌抗病毒防御反应激活, 只需要 4 个 Argonaute 蛋白中的 1 个基因, 即 *agl2* 基因表达, 该基因是 *dcl2* 基因转录所必需的通路^[12-13]。通过转录组学数据分析发现, 与野生型相比, 缺乏 p29 蛋白的突变型菌株, 在受病毒侵染时, *Agl2* 和 *dcl2* 转录物增长到更高水平^[5]。这表明病毒侵入时, CHV1 中 p29 蛋白能够调控 *Agl2* 和 *dcl2* 基因的表达, 从而降低其对真菌病毒的抗性。此外, 通过分析 CHV1 侵染寄主栗疫病菌前后的转录水平后发现, 真菌病毒侵染导致的毒力降低和相关表型变化与真菌病毒侵染引起 G 蛋白信号转导通路的改变有关。Shang 等^[14]报告了 6318 个单基因序列, 并对栗疫病菌的 G 蛋白信号转导途径进行了虚拟重建。该途径包括转

录因子(Ste12 和 CYP1),膜受偶联的异源三聚体 G 蛋白($G\alpha$ 、 $G\beta$ 和 $G\gamma$)和丝裂原活化蛋白(MAP)激酶 CpMK2^[15]。转录分析表明,编码 Ste12、CYP1、 $G\alpha$ 、 $G\beta$ 、 $G\gamma$ 和 CpMK2 基因的转录水平被病毒侵染均受到不同幅度的下调,这表明调节 G 蛋白信号转导通路基因的缺失将导致栗疫病菌毒力降低。

在核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)中已发现由弱毒真菌病毒引起 3 种菌株(Ep-1PN、AH98 和 DT-8)的低毒现象,其中,分别鉴定出 3 种核酸类型(dsRNA、ssRNA 和 ssDNA)的弱毒真菌病毒(*Sclerotinia sclerotiorum* debilitation-associated RNA virus, SsDRV; *Sclerotinia sclerotiorum* hypovirulence-associated DNA virus 1, SsHADV-1; *Sclerotinia sclerotiorum* negative-stranded RNA virus 1, SsNSRV-1)。利用转录组学,通过对病毒侵染前后或对转化特定基因突变体的菌株进行转录组分析,能够揭示病毒侵染引起低毒现象的机制。通过正向和反向遗传学方法证实,在 SsDRV 侵染后,核盘菌的 SSITL 蛋白表达会被沉默,导致其毒力和生长率显著降低^[16]。将 SsNSRV-1 ORF I 的编码蛋白(ORF I)缺失和过表达转化突变型菌株分别进行转录学分析,结果显示, SsNSRV-1 的 ORF I 可以调节寄主基因的转录、翻译和修饰以促进病毒增殖并降低寄主的毒力^[11]。通过对 SsHADV1 侵染前后的寄主核盘菌株 DT-8 进行转录组分析,结果显示, SsHADV1 感染可能会影响宿主 Ras-small G 蛋白信号转导途径,从而可能调节宿主代谢的变化^[17]。此外,高通量测序(RNA-sequencing, RNA-seq)证实, SsHADV-1 病毒侵染能下调参与碳水化合物和脂质代谢、核糖体组装、翻译和毒力因子的基因的表达,从而造成了核盘菌的低毒现象。

2 基于蛋白组学的真菌病毒与寄主真菌互作

2.1 蛋白组学研究方法 蛋白质是生物学功能的效应物,其水平的变化反应细胞翻译和调控水平。蛋白质组学(Proteomics)可用于检测各种状态下的蛋白质,包括蛋白质在任何阶段的表达、结构、功能、相互作用和修饰^[18]。目前,双向电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE)与质谱

(Mass spectrometry, MS)联用是进行蛋白质组学研究最常用的方法,该方法可以极高的灵敏度分离成分复杂的蛋白质^[19]。在研究真菌病毒与寄主真菌互作过程中,为探究真菌病毒侵染导致寄主真菌中蛋白质种类、表达水平和功能的动态变化,应先对侵染前后的寄主真菌进行蛋白质定性或定量的检测,然后利用富集分析以及蛋白质互作网络分析对数据进行分析,最终筛选出差异蛋白,以揭示真菌病毒与寄主真菌互作机制中,蛋白质组成及其变化的规律。

2.2 蛋白组学技术在研究互作机理中的应用

禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)DK21 菌株中发现一种弱毒真菌病毒(*Fusarium graminearum* virus 1, FgV1)^[20]。利用蛋白质组学技术分别对病毒侵染前后的菌株进行双向电泳及质谱分析表明,148 个位点中 23 种蛋白质表达发生了差异表达。其中,参与细胞分化、代谢和蛋白质合成相关的 7 种蛋白质被显著上调;而参与代谢、细胞组成、信号转导、防御和毒力相关的 16 种蛋白质被显著下调。初步证实 FgV1 能够调控寄主真菌的相关蛋白表达水平,提高对病毒侵染的敏感性。寄主真菌的多种蛋白质表达差异的鉴定,为该互作系统机制的后续研究提供了有力支撑。在病毒侵染后 36 h 和 120 h 的 2 个不同时间点,通过对产生差异表达的蛋白基因数据再次进行实时分析。结果显示,早期 FgV1 能够通过上调禾谷镰刀菌中的转录与翻译机制,以此促进病毒复制。相比之下,参与细胞代谢和运输系统所需的基因被显著下调,以此破坏宿主的防御机制与真菌毒力^[21]。为进一步研究蛋白质调节病毒的 RNA 复制机制, Son 等^[22-23]通过转录和蛋白质组学分析,以禾谷镰刀菌中的伏鲁宁体成分蛋白 FgHex1 作为研究对象,通过构建缺乏和过表达 FgHex1 蛋白的突变体菌株,以及使用 FgHex1 蛋白和 FgV1 基因组的 RNA 序列进行了电泳迁移率分析(electrophoretic mobility shift assays, EMSA),证明 FgHex1 可能通过特异性结合 FgV1 基因组 RNA 在 FgV1 侵染禾谷镰刀菌的复制中起直接作用,并促进病毒 RNA 在 FgV1 感染的宿主真菌中的积累。这是首次关于真菌细胞蛋白可以直接与病毒基因组 RNA 结合的报道^[24]。

禾谷镰刀菌包含 2 种编码 dicer 蛋白的基因

(*FgDicer1* 和 *FgDicer2*)和 2 种编码 Argonaute 蛋白的基因(*FgAgo1* 和 *FgAgo2*)。有研究表明, dicer 蛋白和 Argonaute 蛋白在发夹 RNA (hpRNA) 介导的 RNA 沉默病毒防御机制中发挥了关键作用^[25]。为研究禾谷镰刀菌中 RNA 沉默相关的病毒防御机制, Yu 等^[26-27]通过绿色荧光蛋白转录本表达测定以及开放阅读框(open reading frame, ORF)的表达转录水平差异测定证实, *FgV1* ORF2 编码蛋白(pORF2)能够体外与 *FgDICERs* 和 *FgAGOs* 的上游区域结合, 抑制寄主真菌防御相关基因的表达。

3 基于代谢组学的真菌病毒与寄主真菌互作

3.1 代谢组学研究方法 内源性代谢物受机体内基因以及蛋白质的调控, 其在机体的丰度能够直接地反映疾病发生的表征生物学信息规律。代谢组学(Metabolomics)研究对象是某一生物、系统或细胞中所有代谢产物的集合^[28]。目前, 代谢组学研究主要采用核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)和质谱这 2 种分析技术。而随着质谱联用技术的发展, 气相色谱质谱(gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS)、液相色谱质谱(liquid chromatography/mass spectrometry, LC/MS)等测定方法也不断提高和完善, 已成为代谢组学研究的重要工具^[29]。在真菌病毒互作研究领域, 可以通过 GC-MS 分析方法, 获得内源性代谢物谱, 之后利用主成分分析(principal component analysis, PCA)对样本原始数据进行降维处理, 然后运用最小二乘法判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)以及正交偏最小二乘方判别分析(orthogonal partial least square discriminant analysis, OPLS-DA)识别代谢物谱, 判别组间差异大小。最终通过差异倍数分析、聚类分析以及富集分析等分析手段, 揭示真菌病毒侵染过程代谢物组分的差异变化, 进而推导出被真菌病毒侵染的寄主真菌体内代谢紊乱的相关生理机制。

3.2 代谢组学技术在研究互作机理中的应用

立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)是引起水稻纹枯病的病原真菌。笔者所在实验室前期研究发现, 水稻纹枯病菌 D122 菌株中有 3 种 dsRNA 真菌病毒(*Rhizoctonia solani* dsRNA virus 1 ~ 3, Rs-

RV1 ~ 3)存在^[30-31]。一种导致其致病力减弱的内源性 RNA 病毒(*Rhizoctonia solani* endornavirus 1, RsEV1)在立枯丝核菌 GD-2 菌株中被发现。利用 GS-MS 分析表明, 致病强毒菌株 GD-118P 与其同基因低毒力菌株 GD-118P-V1 之间有 32 种代谢物的差异表达。差异代谢物主要包含有机酸、氨基酸、碳水化合物和能量代谢的中间产物。参与了戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化以及乙醛酸、二羧酸、淀粉和蔗糖等代谢途径。综合研究结果分析, RsEV1 侵染立枯丝核菌后可导致代谢紊乱, 从而降低其侵染性^[32]。

灰霉菌(*Botrytis cinerea*)是寄主广泛且具严重破坏性的植物病原真菌之一, 引起全球 200 多种作物的灰霉病, 造成严重的积极损失^[33]。真菌病毒(*Botrytis virus F*, BVF)是一种被认为能够造成灰霉菌产生低毒性的 ssRNA 弱毒真菌病毒, 通过代谢组学分析, BVF 的侵染造成灰霉菌中的多种代谢物出现了明显的差异表达, 包括碳水化合物、氨基酸、脂肪酸的代谢情况。其中, 甘氨酸和苏氨酸被显著下调, 而甲硫氨酸、缬氨酸和同型半胱氨酸的表达水平被显著上调^[34]。近期, Córdoba 等^[35]通过构建 BVF 的侵染性克隆体, 将病毒成功导入 2 种不同的灰霉菌菌株(B05.10 和 Pi258.9), 然而, 通过表型分析显示, 在菌丝营养生长以及致病力方面, BVF 侵染的灰霉菌菌株与无毒菌株并无明显差异。

4 小结与展望

利用多组学研究真菌病毒与寄主真菌互作已是近年来广泛的研究方法, 尤其是利用转录组学对真菌病毒的侵染机制进行研究。转录组学相较于传统互作研究方法以及其他组学研究方法, 有着更好的前瞻性和针对性。从本质上来看, 病毒与寄主的互作机制, 是在蛋白质水平上体现的。而蛋白质受基因的调控, 而代谢物提供实时生物学表型的终端信息。利用转录组学技术进行分析能够快速推断未知基因的功能, 并从转录水平揭示产生蛋白质互作的机理。而发掘寄主真菌转录水平的差异, 能够揭示真菌病毒侵染寄主真菌造成其发生疾病现象的本质。相比于转录水平, 蛋白质表达水平更适合作为动态的生化指标。蛋白质组学能够发掘侵染过程中真菌病毒与寄主真菌

中蛋白质互作的机制,从两者互作的这一关键环节揭示其相互关系。而基因与蛋白质水平表达的差异在代谢水平上放大,使其更易检测,也准确地提供寄主真菌在受真菌病毒侵染后的表型信息。相比于其他组学,代谢组学反应蛋白质在功能上的作用,是连接其他组学和表型之间的桥梁,能够反映生物状态的实时信号,如果说研究基因组学和蛋白质组学能够推断病毒与寄主互作的原理机制,那么研究代谢组学将能够揭示病毒与寄主互作时细胞生命活动发生的实时差异变化。但无论通过何种组学技术分析研究,都离不开发掘和筛选其中的数据差异,通过分析数据差异来探寻病毒侵染寄主背后,调控因子的作用功能以及互作的复杂原理机制。需要注意的是,组学技术的诞生,是为了探寻生物体微观层面的变化,以发掘生命活动中深层次的因素。这就需要操作平台的灵敏度和精确度能够达到比较高的水平,因此每次测量所花费的资金成本较高。并且,受平台技术限制,单一仪器无法对测量目标进行多方位的测量,难免会造成测量数据出现假阳性。

生物与生物之间的关系是相互促进,相互进化的。生物会随时间进化出符合自身条件与适应环境的生存法则。多组学技术的发展为探索真菌病毒更为复杂的侵染机制提供了可能,而多组学联合分析在真菌病毒与寄主真菌互作机制研究中也具有独特的优势,可以填补单一组学数据分析的数据假阳性带来的问题,通过多组学数据之间的相互验证,提高数据的可信度^[36]。更重要的是,多组学数据的联合分析,能探究真菌病毒与寄主真菌互作过程各类生命物质的演化,更利于对互作位点的发掘以及真菌病害发生完整机制的研究。真菌病毒与其寄主真菌在植物上的互作,是不同于实验室培养物上的相互作用。对于已发现的互作机制,可以利用多组学技术进行验证。此外,根据病毒侵入真菌时两者发生互作的关键位点,以此为突破口,或许对受到菌体不亲和限制的菌株或真菌病毒进行基因改造,能够拓展真菌病毒的传播途径,以打破真菌病毒在菌株间的传播受到菌体不亲和的限制^[37]。倘若要对有价值的真菌病毒进行利用,还需要通过多组学系统地研究真菌病毒、真菌和植物之间的三重相互作用,以探究其在自然环境中作用的真实性。

参考文献:

- [1] HOLLINGS M. Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom [J]. *Nature*, 1962, 196(1): 962 - 964.
- [2] GRENTE J, BERTHELAY SAURET S. Biological control of chestnut blight in France [J]. *Reforestation Nurseries & Genetic Resources*, 1978(1): 30 - 36.
- [3] 王文青. 梨黑斑病原菌致病力分化分析与链格孢病毒的鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- [4] 刘忱, 皮磊, 舒灿伟, 等. 低毒真菌病毒在植物病害生物防治中的研究及应用进展[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(2): 552 - 559.
- [5] SUN Q H, CHOI G H, NUSS D L. A single Argonaute gene is required for induction of RNA silencing antiviral defense and promotes viral RNA recombination [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(42): 11793 - 11797.
- [6] YU J, LEE K M, CHO W K, et al. Differential contribution of RNA interference components in response to distinct *Fusarium graminearum* virus infections [J]. *Journal of Virology*, 2018, 92(9). doi:10.1128/JVI.01756-17.
- [7] NEUPANE A, FENG C, MOCHAMA P K, et al. Roles of argonautes and dicers on *Sclerotinia sclerotiorum* antiviral RNA silencing[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019(10): 976 - 986.
- [8] AULIA A, HYODO K, HISANO S, et al. Identification of an RNA silencing suppressor encoded by a symptomless fungal hypovirus, *Cryphonectria hypovirus 4* [J]. *Biology*, 2021(10): 100 - 116.
- [9] HONDA S, EUSEBIO-COPE A, MIYASHITA S, et al. Establishment of *Neurospora crassa* as a model organism for fungal virology [J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 5627 - 5640.
- [10] 宋蓓. 联合代谢组学和转录组学研究珠子参总皂苷抗肝纤维化的作用机制[D]. 西安: 西北大学, 2021.
- [11] GAO Z X, WU J Y, JIANG D H, et al. ORF I of mycovirus SsNSRV-1 is associated with debilitating symptoms of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Viruses*, 2020, 12(4): 456 - 476.
- [12] 刘忱, 张美玲, 舒灿伟, 等. 真菌病毒的研究进展[J]. *中国植保导刊*, 2016, 36(9): 18 - 27.
- [13] GHABRIAL S A, CASTÓN J R, JIANG D H, et al. 50-plus years of fungal viruses [J]. *Virology*, 2015, 479/480: 356 - 368.
- [14] SHANG J J, WU X S, LAN X W, et al. Large-scale expressed sequence tag analysis for the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2008, 45(3): 319 - 327.
- [15] CHEN M M, JIANG M G, SHANG J J, et al. CYP1, a hypovirus-regulated cyclophilin, is required for virulence in the chestnut blight fungus [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2011, 12(3): 239 - 246.
- [16] ZHU W J, WEI W, FU Y P, et al. A secretory protein of

- necrotrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* that suppresses host resistance [J]. *PloS One*, 2013, 8(1): e53901.
- [17] QU Z, FU Y P, LIN Y, et al. Transcriptional responses of *Sclerotinia sclerotiorum* to the infection by SsHADV-1 [J]. *Journal of Fungi*, 2021, 7(7): 493 – 508.
- [18] 孙晓琦. IBV 感染鸡 PBMCs-Mφ 蛋白组学及 STING 对感染细胞 ISGs 基因表达及病毒复制的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2021.
- [19] 喻娟娟, 戴绍军. 植物蛋白质组学研究若干重要进展[J]. *植物学报*, 2009, 44(4): 410 – 425.
- [20] KWON S J, CHO S Y, LEE K, et al. Proteomic analysis of fungal host factors differentially expressed by *Fusarium graminearum* infected with *Fusarium graminearum* virus-DK21 [J]. *Virus Research*, 2009, 144(1/2): 96 – 106.
- [21] CHO W K, YU J, LEE K, et al. Genome-wide expression profiling shows transcriptional reprogramming in *Fusarium graminearum* by *Fusarium graminearum* virus 1-DK21 infection [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 173.
- [22] SON M, LEE K M, YU J, et al. The *HEX1* gene of *Fusarium graminearum* is required for fungal asexual reproduction and pathogenesis and for efficient viral RNA accumulation of *Fusarium graminearum* virus 1 [J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(18): 10356 – 10367.
- [23] SON M, CHOI H, KIM K H, et al. Specific binding of *Fusarium graminearum* Hex1 protein to untranslated regions of the genomic RNA of *Fusarium graminearum* virus 1 correlates with increased accumulation of both strands of viral RNA [J]. *Virology*, 2016, 489: 202 – 211.
- [24] LI P F, BHATTACHARJEE P, WANG S C, et al. Mycoviruses in *Fusarium* species: An update[M]. Beijing: Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2019.
- [25] CHEN Y, GAO Q X, HUANG M M, et al. Characterization of RNA silencing components in the plant pathogenic fungus *Fusarium graminearum* [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 12500.
- [26] YU J, LEE K M, CHO W K, et al. Differential contribution of RNA interference components in response to distinct *Fusarium graminearum* Virus Infections [J]. *Journal of Virology*, 2018, 92(9): e01756 – e01764.
- [27] YU J, PARK J Y, HEO J, et al. The ORF2 protein of *Fusarium graminearum* virus 1 suppresses the transcription of FgDICER2 and FgAGO1 to limit host antiviral defences [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2019, 21(2): 230 – 243.
- [28] HOLMES E, WILSON I D, NICHOLSON J K. Metabolic phenotyping in health and disease [J]. *Cell*, 2008, 134(5): 714 – 717.
- [29] 李维薇. 婴儿巨细胞病毒肝炎的病证代谢组学研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [30] ZHANG M L, ZHENG L, LIU C, et al. Characterization of a novel dsRNA mycovirus isolated from strain A105 of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA [J]. *Archives of Virology*, 2018, 163: 427 – 430.
- [31] ZHENG L, LIU C, ZHANG M L, et al. Diversity of dsRNA viruses infecting rice sheath blight fungus *Rhizoctonia solani* AG-1 IA [J]. *Rice Science*, 2018, 25(1): 57 – 60.
- [32] ZHENG L, SHU C W, ZHANG M L, et al. Molecular characterization of a novel endornavirus conferring hypovirulence in rice sheath blight fungus *Rhizoctonia solani* AG-1 IA strain GD-2 [J]. *Viruses*, 2019, 11(2): 178 – 191.
- [33] DONAIRE L, AYLLÓN M A. Deep sequencing of mycovirus-derived small RNAs from *Botrytis* species[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2017, 18(8): 1127 – 1137.
- [34] BOINE B, PEARSON M N, et al. Molecular tools for studying the interaction between *Botrytis* and the viruses BVX and BVF [J]. *IOBC/WPRS Bulletin*, 2009, 43: 49 – 52.
- [35] CÓRDOBA L, RUIZ PADILLA A, RODRÍGUEZ ROMERO J, et al. Construction and characterization of a *Botrytis* virus F infectious clone [J]. *Journal of Fungi*, 2022, 8(5): 459 – 478.
- [36] 李倩, 张锡宝, 梁景耀. 转录组学、蛋白组学及代谢组学在皮肤领域的应用[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2022, 29(1): 77 – 81.
- [37] XIE J T, JIANG D H. New insights into mycoviruses and exploration for the biological control of crop fungal diseases [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2014, 52: 45 – 68.

(下转第 440 页)

Exosomes derived from lipopolysaccharide-activated macrophage cell line HD 11 cell induce the activation of dendritic cells from Wenchang chicken *in vitro*

XING Niwen, XIE Yan, QIN Yao

(School of Animal Science and Technology, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: It has been demonstrated that exosomes derived from macrophages can be used as adjuvants to enhance cellular immune response. An attempt was made to explore whether exosomes derived from lipopolysaccharide-activated chicken macrophages could be used as immune adjuvants for the potential prevention and control of epidemic diseases in Wenchang chicken. The exosomes were extracted by ultracentrifugation and identified by transmission electron microscopy and particle size analysis. Subsequently, the exosomes were labeled with PKH67 dye and co-incubated with bone marrow-derived dendritic cells from Wenchang chicken. The uptake and activation of the exosomes by the dendritic cells were observed under a fluorescence microscope. The results showed that the exosomes derived from chicken macrophage HD 11 cells stimulated with lipopolysaccharides were ingested by amphioxus-derived dendritic cells and promoted the activation of dendritic cells.

Keywords: exosome; macrophage; dendritic cell; Wenchang chicken; lipopolysaccharide

(责任编辑:叶 静)

(上接第 404 页)

Advances in the interaction between mycoviruses and host fungi based on multi-omics

FAN Yu, HE Zhenrui, HUANG Xiaotong, YANG Mei, ZHOU Erxun

(Guangdong Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control/ College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: The principles, methods and steps of multi-omics, including metabonomics, transcriptomics and proteomics technologies, were described, and the current status, future research directions and the advantages of high sensitivity and high throughput of metabonomics, transcriptomics and proteomics technologies in the interaction between mycoviruses and host fungi were comprehensively analyzed in combination with their research cases in hypovirulent mycoviruses. This review is helpful for deep exploration of the effects of mycoviruses on host fungi and their molecular mechanisms, and provides methods and ideas to determine whether mycoviruses can be used as biological factors for control of plant fungal diseases.

Keywords: mycovirus; multi-omics; interaction; biological control

(责任编辑:潘学峰)