

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2016.40654

高爽, 刘笑尘, 董铮, 刘茂炎, 戴良英. 叶际微生物及其与外界互作研究进展[J]. 植物科学学报, 2016, 34(4): 654-661

Gao S, Liu XC, Dong Z, Liu MY, Dai LY. Advance of phyllosphere microorganisms and their interaction with the outside environment[J].

Plant Science Journal, 2016, 34(4): 654-661

叶际微生物及其与外界互作的研究进展

高爽, 刘笑尘, 董铮, 刘茂炎, 戴良英*

(湖南农业大学植物保护学院植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室, 长沙 410128)

摘要: 叶际微生物及其生存环境共同形成了一个复杂的生态系统。建立在纯种分离和纯培养技术基础之上的传统研究方法只能了解其中部分叶际微生物, 但对物种组成、种群结构和生态学作用等方面的认识都比较片面。近年来随着分子生物学和生物信息学的进步, 人们对叶际微生物总群落分析逐渐揭示了叶际微生物组成的多样性及其特点, 以及与外界互相作用的复杂性。研究表明, 植物种类、地理位置和季节差异等都不同程度地影响着叶际微生物群落的构成。本文综述了近年来国内外叶际微生物群落结构组成及其与外界互作方面的研究进展, 有利于加深对叶际微生物的了解, 也有助于深入理解叶际微生物与植物生长和植物病虫害防治的关联关系。

关键词: 叶际微生物; 16S rDNA; 微生物多样性; 微生物互作

中图分类号: Q938.1

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2016)04-0654-08

Advance of Phyllosphere Microorganisms and Their Interaction with the Outside Environment

GAO Shuang, LIU Xiao-Chen, DONG Zheng, LIU Mao-Yan, DAI Liang-Ying*

(Hunan Province Key Laboratory for Biology and Prevention of Plant Diseases and Insect Pests Department of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: The phyllosphere comprises the aerial parts of plants and is dominated by the leaves. Microbes that colonize the aerial habitat are termed phyllosphere microorganisms, and form a complex ecosystem within the environment. Conventional culture-dependent methodologies have provided partial information, but are limited by the medium and culture conditions. Recently, a significant advance in molecular biology and informatics techniques revealed vital clues regarding information on the identities and properties of microbial groups in the phyllosphere. Complex interactions are expected to occur in the phyllosphere between various microorganisms as well as between microorganisms and host plants. This article reviews the latest research on the diversity and multipartite interactions in phyllosphere bacterial communities, providing new insight into the relationships between phyllosphere microorganisms and contributing to more effective, less environmentally damaging means of plant pest control.

Key words: Phyllosphere microorganisms; 16SrDNA; Microbial diversity; Microorganism interaction

收稿日期: 2015-12-29, 退修日期: 2016-03-24。

基金项目: 湖南省现代柑橘产业技术体系专项 2015(137 号)。

This work was supported by a grant from the Hunan Modern Citrus Industry Technology System Projects 2015(No. 137).

作者简介: 高爽(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物与微生物互作。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: daily@hunau.net)。

1981年Blackman首次将寄生在植物叶片表面的微生物定义为叶际微生物^[1,2]。现在,由于叶、茎、花、果等植物地上部分的环境条件一致,人们普遍认为叶际是指维管植物地上部分的表面和内部。地球上植物的叶面面积大概为十亿平方公里^[3]。与根际环境相比,叶际环境的营养物质和水资源相对匮乏,且面临着紫外线照射、温差过大和存在活性氧等不利于微生物生长的严苛条件。即便如此,叶际微生物的组成仍然十分丰富且复杂,不同物种有着不同的微生物群落^[2,4,5],包括细菌、古细菌、真菌和原生生物等^[3,6,7]。其中细菌是叶际微生物中数量最多的一种,推测其总量超过 10^{26} ^[8],平均数量是 $10^6 \sim 10^7$ cell/cm²^[3]。

近期的研究深入地揭示了叶际微生物群落的组成,并依据植物宿主种类、时间和空间等因素综合评价群落构成。已报道的叶际微生物群落组成均有规律可循,这表明微生物群落并不是随机组成,而是经历了选择的结果^[4,9-12]。

本文从叶际微生物群落的组成、特点及其与外界的相互作用等几个方面综述了最新的研究进展,并对叶际微生物的应用和发展进行了展望。

1 叶际微生物群落的组成及特点

1.1 叶际微生物群落的组成

总的来说,叶际微生物群落的种群丰度较高,尤其在温带、亚热带和热带地区^[9,12,13]。真菌群落温带地区有着很高的变异度,甚至比热带植物展示出了更丰富的多样性^[14]。叶际微生物存在优势类群,已有研究表明变形菌门(Proteobacteria)是叶际微生物的优势类群^[9,15]。

对大豆(*Glycine max* (L.) Merr)、三叶草(*Trifolium repens* L.)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)、水稻(*Oryza sativa* L.)叶片样品的分析结果表明,变形菌门是最具代表性的类群^[9,13,16,17]。其中, α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)数量约占每种叶片样品的70%,其中属于根瘤菌目(Rhizobiales)的甲基杆菌科(Methylobacteriaceae)在4种样品中均有发现;3种双子叶植物中,最大的细菌种群是鞘脂单胞菌目(Sphingomonadales)。除了变形菌门,在大豆、三叶草和拟南芥叶际微生物中还发现了大量的拟杆菌门(Bacteroidetes),但在水稻叶际样品中所

占比例很小。放线菌属(*Actinomycete*)是水稻叶际微生物中的优势群体,约占总微生物数量的40%,而在另外3种双子叶植物中比例很低。另外,一些细菌的种类在不同植物的叶际样品中被反复的检测到,如土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)、棒形杆菌属(*Corynebacterium*)、泛菌属(*Pantoea*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和黄单胞菌属(*Xanthomonas*)等,其中还包括了部分植物或动物的致病性微生物种类。

根据叶际微生物群落来源的差异,可将其分为原生微生物和外来微生物两大类。对一年生植物的叶际菌种群落研究表明,叶际环境中存在一些遗留的原生细菌^[18]。然而,以16S rDNA为基础的分析揭示早期的核心群落来自空气、种子、土壤和其它植物,例如假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)细菌可以通过种子在植物的不同世代之间传递^[19]。这解释了不同种类的一年生植物具有相似的优势细菌群落的现象^[18]。来源不同的微生物对于叶际微生物群落的影响尚未深入研究,但可以肯定的是,通过种子垂直传播和通过土壤、空气和或其它植物的水平传播都起到了作用。

1.2 叶际微生物的特点

1.2.1 存在形式

大部分在叶片表面生存的细菌不以单个细胞或者细胞小群体的方式存在,而是形成更大的聚合物(Aggregate)^[20],这些聚合物通常包括一些细菌和少量真菌^[21]。通过接种模式菌株并在荧光显微镜下观察,发现大部分细菌的数量均以超过1000个细胞或者更大的规模聚合在一起,聚合规模的大小与水分可利用率呈正相关^[22]。这些聚合物叶片表面普遍存在凹陷,例如沿着叶脉以毛状体为基础存在于表皮细胞的连接处^[21,22],其中,通常还嵌入了胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substances, EPS)^[21],EPS能帮助维持细菌菌体周围的含水量。这些聚合物是如何形成、复制和迁移等问题,还有待于在微观尺度上更深入地研究^[23,24]。

1.2.2 存在状态

大部分叶际微生物具“有活性但不可培养”(Viable But Nonculturable, VBNC)的特性。在逆境条件下,例如叶片表面受营养限制、干燥、极端温

度和强烈紫外线照射等影响下,可能会导致这一特性的产生^[25,26]。细菌进入 VBNC 状态后会保持低水平的代谢活力,并持续很长时间,因此这一特性有利于叶际微生物在逆境中生存^[27,28]。超过半数的已知细菌类群存在不可培养的种群^[29]。对相同样品使用可培养法和不可培养法研究微生物种群的结果显示,目前还很难估计出可培养微生物占叶际微生物的比例^[15,30-37]。由于现有的培养技术和培养条件尚不能充分模拟出微生物的自然生长环境^[38,39],因此将“不可培养的”微生物定义为“未培养的”微生物可能更为合适。

1.2.3 生存模式

当微生物成功定植于一个新的环境,其物种丰富度首先增加,之后随着竞争加剧,物种丰富度降低,而在接下来的阶段,由于建立了新的空间和生态区位,资源多样性增加,物种丰富度又会增加,这种现象称为演替。演替是动植物系统中经常被研究的问题,但对环境微生物的这种现象却很少关注。由于传统的技术很难全面描述微生物多样性,所以对微生物群落的演替研究较少。随着分子生物学技术的进步,现已能够准确、快速地研究和描述微生物的群落结构和组成,以及微生物演替动态的竞争模式^[10]。有些研究特别关注微生物演替过程和参与者,同时比较模式的相似性。例如 Nemer-gut 等^[40]检验新采集的冰川土年代序列的结果表明,这些土壤微生物的演替模式和微生物系统相似;Jackson 等^[41]提出了一个用来描述演替过程中群落丰度变化的概念模式。在一些传统的可培养法研究中^[41,42],微生物群落都依循“可预测”和“可重复”的演替模式,每年处在生长季相同的叶片样品,都有相似的微生物群落。使用免培养法的研究同样显示,叶际微生物群落有高水平的遗传多样性和高效的周转率,遵循演替模式^[10]。

2 叶际微生物和外界的互作

叶际微生物和宿主植物、叶际微生物之间都会发生复杂的相互作用^[43]。微生物和宿主之间包括寄生、共生和互惠共生的关系。对于叶际微生物而言,宿主主要提供营养物质,但微生物的定殖对于植物来说却往往不是必需的。由于植物对叶际病原菌的反应和对叶际微生物共生体的应答机制尚不清楚,所以明确阐述决定叶际细菌之间的相互作用和

最终形成微生物群落的影响因素的研究依然较少。

2.1 与宿主植物的互作

2.1.1 叶际微生物对宿主植物的影响

叶际微生物与宿主植物的关系十分复杂,既有固氮、促进生长和分解残留农药等正面作用^[2,44,45],也有引发植物病害等负面作用^[3]。多数叶际定殖的微生物与宿主植物是共生关系^[46],但针对这些非病原菌叶际微生物的研究很少。

一些叶际微生物群落的互作对植物起到了一定保护作用^[46,47]。例如由丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)菌株产生的生物活性分子(例如冠菌素 Coronatine^[48]和一种蛋白酶体抑制剂 Syringolin A^[49])能引的气孔关闭,从而影响病原体进入质外体(Apopla);王洋等^[50]研究发现酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)可以诱导植物的气孔免疫现象,在抵御病原菌入侵的同时,也降低了植物的蒸腾作用,提高水分利用率;杜威等^[51]研究白僵菌属(*Beauveria*)对水稻叶际微生物的结果表明,白僵菌能够保护水稻酶活力,是一种环境友好型细菌。整个叶际微生态中的酵母和真菌能够对全球的碳和氮的循环产生巨大影响^[9,52],叶际微生物也能通过直接利用植物释放的或节肢动物分泌的碳水化合物^[53]、硝化细菌截取的大气污染物铵以及固氮作用来实现碳、氮循环;除了主要研究热带雨林植物以外,温带森林系也是研究叶际固氮细菌的一个方向^[54]。

有益叶际微生物对植物到底有多大程度的影响还有待进一步探索^[46,55],对于腐生菌的物质循环、修复农药残留和大气碳氢化合物污染可能会有重要作用,或者像生物肥料、植物生长调节物质和生物农药一样防止病原菌入侵,关系到植物的发育和健康^[6,9,56]。

2.1.2 宿主植物对叶际微生物的影响

植物的基因型对于叶际微生物群落的构成有决定性的影响^[4]。植物中表型特性或相关的机制是怎样作用于叶际微生物群落依然未知。

Hunter^[49]和 Balint-Kurti 等^[57]研究了植物特性(潜在的基因型)和叶际微生物群落发育的关系。Hunter 等^[49]研究了植物物理、化学和生理特性对细菌群落结构的影响,选取表现出丰富遗传多样性的莴苣(*Lactuca*)品种,结合叶片形态学参数(如形状、边缘的褶皱和上皮细胞壁连接处的密度)以

及叶片化学性质(蜡质层、氮、磷、钙、镁、酚类、可溶的碳水化合物以及水分含量)等指标,使用末端限制性片段长度多样性方法(T-RFLP)分析了它们的叶际细菌群落的结构,结果表明不同植物形态的 T-RFLP 数据之间存在显著差异。从3个有代表性的莴苣中提取总DNA,建立16S rDNA基因克隆库来分析细菌群落结构,这些克隆库在序列和细菌种类方面有很大的不同。总的来说,叶片特性对于区别叶际细菌群落十分重要。细菌群落的差异与可溶性碳水化合物、水分含量和叶片曝晒程度密切相关。Balint-Kurti等^[57]揭示了玉米重组自交系的叶际细菌种群的多样性差异,同时通过比较不同植物基因型性状的遗传结构,探索了植物对微生物群落的影响机制,认为玉米的六号染色体区域(QTL)控制叶际微生物多样性,而这些基因座与控制玉米小斑病(Southern Leaf Blight, SLB)真菌病害抗病性有很高的重叠部分。这种联系可能是由有利于有益细菌生长的某些植物特性引起的,也表明叶片结构和新陈代谢的差异可引起微生物生长的选择。

Pan等^[58]鉴定了叶际细菌、真菌以及苏云金芽胞杆菌(Bt)Cry1A蛋白质的表达在转基因棉花中的关系,对变性梯度凝胶电泳(Denatured Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)数据、16S和18S rDNA的序列片段的研究结果表明,真菌比细菌更容易受Cry1Ac蛋白质的影响。

2.2 叶际微生物之间的相互作用

叶际微生物之间相互作用的机制是植物保护实际应用的基础。研究发现,变形菌门革兰氏阴性菌中的高丝氨酸内酯(AHLs)作为群体感应(QS)分子,调节了烟叶叶际细菌群落的密度。同时,通过DGGE和磷脂脂肪酸分析表明它们还改变了群落的构成^[59]。假单胞菌和其它产生AHL的变形菌门的细菌利用依赖QS的机制来确保它们在营养缺乏的叶际环境中和其它菌种竞争^[53]。因此,AHL QS信号对叶际细菌的相互作用十分重要,可能有利于抑制病原菌在叶际环境中的生长。

对微生物群落生物膜功能基因的深入研究建立在菠菜叶片的溶菌产物上,与大肠杆菌O157:H7共接种的研究表明,营养物质的竞争是叶际微生物之间重要的相互关系^[60]。基因芯片(GeoChip)的数据表明大肠杆菌O157:H7主要与放线菌、变形

菌、担子菌门和不可培养的真菌竞争碳资源,与它们的细菌竞争碳资源。通过16S rDNA扩增研究细菌群落的组成发现,莴苣细菌性叶斑病菌(*Xanthomonas campestris* pv. *vitiensis*)的丰度与其它叶际微生物的出现或缺失相关联^[15]。此外,一些芽孢杆菌例如欧文氏菌(*Erwinia carotovora*)和泛菌属(*Pantoea*)能抑制病原菌的生长。

2.3 影响叶际微生物的因素

16S rDNA扩增结果表明,植物物种的特性、地理位置、季节差异等自然因素都会影响微生物的组成结构。Hunter^[49]、Vokou^[61]、Redford^[62]和Ding等^[63]认为植物种类是影响叶际微生物群落组成的主要因素。宿主种类、基因型和叶龄等生物因素都对植物生物群落的结构产生影响^[64]。事实上,植物种类、形态、叶片的位置和高度、叶龄都与其关联。此外,多变的叶片表面特征例如表皮细胞壁连接处、叶脉的凹槽处、气孔、毛状体和排水器都是细菌的优先附着点^[53],这也导致了细菌在叶片表面的不均匀分布。不同植物种类上定殖着不同类型的微生物,其原因主要有植物的生理生化性质,如叶片水分和磷的含量、酚类物质的浓度(可能对一些细菌有抑制作用)以及叶片和叶肉的厚度等^[65]。Rastogi^[15]、Qvit-Raz等^[11,66]研究发现,地理位置和环境是影响叶际微生物群落构成的决定性因素,不同的地理位置但品种相同的植物叶际微生物群落结构差别很大。而处于相同温度的热带地区的叶片有不同的叶际细菌群落^[12,62],细菌和真菌都有季节性的动态变化^[15,67,68]。此外,研究还发现海拔对微生物群落多样性的影响比对植物和动物的多样性影响小^[69]。温度、降雨、风和紫外线等一系列环境因素,都会对叶际微生物的定殖产生影响。

人为施加农药或微生物会对原生的叶际微生物群落造成一定影响。研究表明,吡虫啉和敌敌畏的施用对叶际微生物群落结构发生了较大的改变^[70,71];而微生物农药白僵菌对水稻叶际细菌真菌微生物群落结构影响较小^[51]。

叶际微生物多样性研究还有很多有待解决的问题,如不同的叶片结构组成是否对代谢功能有影响^[49,72],影响微生物群落结构的重要因素是地理位置还是气候^[15,16]。随着生命科学技术的发展,这些问题将会得到解决。

5 讨论

叶际是研究生态系统基本法则的一个便利的系统模型, 研究内容涉及到植物保护、大气化学等很多不同领域。一些有益叶际微生物能够提高植物的抗病性, 还可以产生激素以促进植物生长; 还有一些可以利用农药等污染有机物作为营养物质, 在环境生物修复方面显示出巨大的潜力。同时, 作为一种生态学指标, 叶际微生物在生态稳定与环境安全评价中起到了重要作用。但是, 叶际微生态是一个不稳定、多变的系统, 并且因为微生物的不可培养性, 所以研究过程会遇到很多瓶颈。随着生命科学技术的不断进步, 对叶际微生态的研究将会更加深入。

参考文献:

- [1] Blakeman JP. Microbial Ecology of the Phylloplane [M]. New York: Academic Press Inc., 1981.
- [2] Leveau JH. Life of Microbes on Aerial Plant Parts [M]. Principles of Plant-Microbe Interactions. Springer, 2015: 17-24.
- [3] Lindow SE, Bandl MT. Microbiology of the Phyllosphere [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(4): 1875-1883.
- [4] Whipps JM, Hand P, Pink D, Bending GD. Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype [J]. *J Appl Microbiol*, 2008, 105(6): 1744-1755.
- [5] Yadav RKP, Papatheodorou EM, Karamanoli K, Constantinidou HA, Vokou D. Abundance and diversity of the phyllosphere bacterial communities of Mediterranean perennial plants that differ in leaf chemistry [J]. *Chemoecology*, 2008, 18(4): 217-226.
- [6] Newton AC, Gravouil C, Fountaine JM. Managing the ecology of foliar pathogens: ecological tolerance in crops [J]. *Ann Appl Biol*, 2010, 157(3): 343-359.
- [7] Berlec A. Novel techniques and findings in the study of plant microbiota: search for plant probiotics [J]. *Plant Sci*, 2012, 193-194(3): 96-102.
- [8] Bailey MJ, Lilley A, Timms-Wilson T, Spencer-Phillips P. Microbial Ecology of Aerial Plant Surfaces [M]. CABI, 2006.
- [9] Delmotte N, Kniff C, Chaffron S, Innerebner G, Roschitzki B, Schlapbach R, Von mering C, Vorholt JA. Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(38): 16428-16433.
- [10] Redford AJ, Fierer N. Bacterial succession on the leaf surface: A novel system for studying successional dynamics [J]. *Microb Ecol*, 2009, 58(1): 189-198.
- [11] Finkel OM, Burch AY, Lindow SE, Post AF, Belkin S. Geographical location determines the population structure in phyllosphere microbial communities of a salt-excreting desert tree [J]. *Appl Environ Microb*, 2011, 77(21): 7647-7655.
- [12] Kim M, Singh D, Lai-Hoe A, Go R, Abdul Rahim R, Ainnuddin AN, Chun J, Adams JM. Distinctive phyllosphere bacterial communities in tropical trees [J]. *Microb Ecol*, 2012, 63(3): 674-681.
- [13] Knief C, Delmotte N, Chaffron S, Stark M, Innerebner G, Wassmann R, Von Mering C, Vorholt JA. Metaproteogenomic analysis of microbial communities in the phyllosphere and rhizosphere of rice [J]. *ISME J*, 2012, 6(7): 1378-1390.
- [14] Stark M, Berger SA, Stamatakis A, Von Mering C. ML-treemap-accurate maximum likelihood placement of environmental DNA sequences into taxonomic and functional reference phylogenies [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(1): 461.
- [15] Rastogi G, Sbodio A, Tech JJ, Suslow TV, Coaker GL, Leveau JH. Leaf microbiota in an agroecosystem: spatio-temporal variation in bacterial community composition on field-grown lettuce [J]. *ISME J*, 2012, 6(10): 1812-1822.
- [16] Vorholt JA. Microbial life in the phyllosphere [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10(12): 828-840.
- [17] Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study [J]. *J Bacteriol*, 1991, 173(2): 697-730.
- [18] Knief C, Ramette A, Frances L, Alonso-Blanco C, Vorholt JA. Site and plant species are important determinants of the Methylobacterium community composition in the plant phyllosphere [J]. *ISME J*, 2010, 4(6): 719-728.
- [19] Lee J, Teitzel GM, Munkvold K, Del Pozo O, Martin GB, Michelmore RW, Greenberg JT. Type III secretion and effectors shape the survival and growth pattern of *Pseudomonas syringae* on leaf surfaces [J]. *Plant Physiol*, 2012, 158(4): 1803-1818.
- [20] Jumpponen A, Jones KL. Massively parallel 454 sequencing indicates hyperdiverse fungal communities in temperate *Quercus macrocarpa* phyllosphere [J]. *New Phytol*, 2009, 184(2): 438-448.
- [21] Baldotto L, Olivares FL. Phyloepiphytic interaction between bacteria and different plant species in a tropical agricultural system [J]. *Can J Microbiol*, 2008, 54(11): 918-931.
- [22] Monier JM, Lindow S. Frequency, size, and localization of bacterial aggregates on bean leaf surfaces [J]. *Appl*

- Environ Microbiol*, 2004, 70(1): 346–355.
- [23] Pérez-Velázquez J, Schlicht R, Dulla G, Hense B, Kuttler C, Lindow S. Stochastic modeling of *Pseudomonas syringae* growth in the phyllosphere[J]. *Math Biosci*, 2012, 239(1): 106–116.
- [24] Monier JM, Lindow S. Spatial organization of dual-species bacterial aggregates on leaf surfaces[J]. *Appl Environ Microb*, 2005, 71(9): 5484–5493.
- [25] Wilson M, Lindow S. Viable but Nonculturable Cells in Plant-Associated Bacterial Populations[M]. Colwell R, Grimes DJ. Nonculturable Microorganisms in the Environment. Springer US, 2000: 229–241.
- [26] Dinu LD, Bach S. Induction of viable but nonculturable *Escherichia coli* O157:H7 in the phyllosphere of lettuce; a food safety risk factor[J]. *Appl Environ Microb*, 2011, 77(23): 8295–8302.
- [27] Oliver JD. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2010, 34(4): 415–425.
- [28] Degefu Y, Virtanen E, V Yrynen T. Pre-PCR processes in the molecular detection of blackleg and soft rot erwiniae in seed potatoes[J]. *J Phytopathol*, 2009, 157(6): 370–378.
- [29] Schloss PD, Handelsman J. Metagenomics for studying unculturable microorganisms: cutting the Gordian knot[J]. *Genome Biol*, 2005, 6(8): 229.
- [30] Ruppel S, Krumbein A, Schreiner M. Composition of the phyllospheric microbial populations on vegetable plants with different glucosinolate and carotenoid compositions[J]. *Microb Ecol*, 2008, 56(2): 364–372.
- [31] Rastogi G, Tech JJ, Coaker GL, Leveau JH. A PCR-based toolbox for the culture-independent quantification of total bacterial abundances in plant environments[J]. *J Microbiol Meth*, 2010, 83(2): 127–132.
- [32] Yashiro E, Spear RN, Mcmanus PS. Culture-dependent and culture-independent assessment of bacteria in the apple phyllosphere[J]. *J Appl Microbiol*, 2011, 110(5): 1284–1296.
- [33] Stiefel P, Zambelli T, Vorholt JA. Isolation of optically targeted single bacteria by application of fluidic force microscopy to aerobic anoxygenic phototrophs from the phyllosphere[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79(16): 4895–4905.
- [34] Niwa R, Yoshida S, Furuya N, Tsuchiya K, Tsushima S. Method for simple and rapid enumeration of total epiphytic bacteria in the washing solution of rice plants[J]. *Can J Microbiol*, 2011, 57(1): 62–67.
- [35] Kisluk G, Yaron S. Presence and persistence of *Salmonella enterica* serotype typhimurium in the phyllosphere and rhizosphere of spray-irrigated parsley[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78(11): 4030–4036.
- [36] Ponder M, Carder P, Lopez-velasco G, Welbaum GE. The development of spinach (*Spinacia oleracea*) phyllo-epiphytic bacterial community from seed through mature leaf stages is influenced by environment[J]. *Acta Horti*, 2012, 938: 29–38.
- [37] Reisberg EE, Hildebrandt U, Riederer M, Hentschel U. Phyllosphere bacterial communities of trichome-bearing and trichomeless *Arabidopsis thaliana* leaves[J]. *Anton Leeuw*, 2012, 101(3): 551–560.
- [38] Ritz K. The plate debate: cultivable communities have no utility in contemporary environmental microbial ecology[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2007, 60(3): 358–362.
- [39] Nichols D. Cultivation gives context to the microbial ecologist[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2007, 60(3): 351–357.
- [40] Nemergut DR, Anderson SP, Cleveland CC, Martin AP, Miller AE, Seimon A, Schmidt SK. Microbial community succession in an unvegetated, recently deglaciated soil[J]. *Microbiol Ecol*, 2007, 53(1): 110–122.
- [41] Jackson CR, Churchill PF, Roden EE. Successional changes in bacterial assemblage structure during epilithic biofilm development[J]. *Ecology*, 2001, 82(2): 555–566.
- [42] Martiny AC, J Rgensen TM, Albrechtsen HJ, Arvin E, Molin S. Long-term succession of structure and diversity of a biofilm formed in a model drinking water distribution system[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(11): 6899–6907.
- [43] Perez JL, French JV, Summy KR, Baines AD, Little CR. Fungal phyllosphere communities are altered by indirect interactions among trophic levels[J]. *Microbiol Ecol*, 2009, 57(4): 766–774.
- [44] Bringel F, Cou EI. Pivotal roles of phyllosphere microorganisms at the interface between plant functioning and atmospheric trace gas dynamics[J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 486.
- [45] Venkatachalam S, Ranjan K, Prasanna R, Ramakrishnan B, Thapa S, Kanchan A. Diversity and functional traits of culturable microbiome members, including cyanobacteria in the rice phyllosphere[J]. *Plant Biol*, 2016, 18(4): 627–637.
- [46] Innerebner G, Knief C, Vorholt JA. Protection of *Arabidopsis thaliana* against leaf-pathogenic *Pseudomonas syringae* by *Sphingomonas* strains in a controlled model system[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(10): 3202–3210.
- [47] Ottesen AR, Gorham S, Pettengill JB, Rideout S, Evans P, Brown E. The impact of systemic and copper pesticide applications on the phyllosphere microflora of tomatoes[J]. *J Sci Food Agr*, 2015, 95(5): 1116–1125.
- [48] Melotto M, Underwood W, Koczan J, Nomura K, HE SY. Plant stomata function in innate immunity against bacterial

- invasion[J]. *Cell*, 2006, 126(5): 969–980.
- [49] Hunter PJ, Hand P, Pink D, Whipps JM, Bending GD. Both leaf properties and microbe-microbe interactions influence within-species variation in bacterial population diversity and structure in the lettuce (*Lactuca* species) phyllosphere[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(24): 8117–8125.
- [50] 王洋. β -氨基丁酸加强酵母诱导气孔免疫效应的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
Wang Y. The study on the effect of β -aminobutyric acid enhancing the stomatal immunity induced by yeast[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.
- [51] 杜威, 江萍, 王彦苏, 吕立新, 王宏伟, 卜元卿, 刘常宏, 戴传超. 白僵菌施加对水稻三种抗氧化酶活力及叶际微生物多样性的影响[J]. *生态学报*, 2014, 34(23): 6975–6984.
Du W, Jiang P, Wang YS, Lü LX, Wang HW, Bu YQ, Liu CH, Dai CC. Effects of *Beauveria bassiana* on paddy antioxidant enzymes activities and phyllosphere microbial diversity[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(23): 6975–6984.
- [52] Singh BK, Bardgett RD, Smith P, Reay DS. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options[J]. *Nat Rev Micro*, 2010, 8(11): 779–790.
- [53] Muller T, Ruppel S. Progress in cultivation-independent phyllosphere microbiology [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2014, 87(1): 2–17.
- [54] Papen H, Gessler A, Zumbusch E, Rennenberg H. Chemolithoautotrophic nitrifiers in the phyllosphere of a spruce ecosystem receiving high atmospheric nitrogen input[J]. *Curr Microbiol*, 2002, 44(1): 56–60.
- [55] Knief C, Delmotte N, Vorholt JA. Bacterial adaptation to life in association with plants—a proteomic perspective from culture to in situ conditions [J]. *Proteomics*, 2011, 11(15): 3086–3105.
- [56] Ali N, Sorkhoh N, Salamah S, Eliyas M, Radwan S. The potential of epiphytic hydrocarbon-utilizing bacteria on legume leaves for attenuation of atmospheric hydrocarbon pollutants[J]. *J Environ Manage*, 2012, 93(1): 113–120.
- [57] Balint-kurti P, Simmons SJ, Blum JE, Ballar CL, Stapleton AE. Maize leaf epiphytic bacteria diversity patterns are genetically correlated with resistance to fungal pathogen infection[J]. *Mol Plant Microbe In*, 2010, 23(4): 473–484.
- [58] Pan J, Cui M, Hu Q, Ma A, Bai Z, Yang D, Zhang H, Guo H, Qi H. Multivariate analysis linkage of phyllospheric microbial community of transgenic cotton from SGK321 to Cry1Ac: a temporal expression dynamics[J]. *Afr J Microbiol Res*, 2012, 6: 5371–5382.
- [59] Lv D, Ma A, Bai Z, Zhuang X, Zhuang G. Response of leaf-associated bacterial communities to primary acyl-homoserine lactone in the tobacco phyllosphere[J]. *Res Microbiol*, 2012, 163(2): 119–124.
- [60] Carter MQ, Xue K, Brandl MT, Liu F, Wu L, Louie JW, Mandrell RE, Zhou J. Functional metagenomics of *Escherichia coli* O157:H7 interactions with spinach indigenous microorganisms during biofilm formation [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44186.
- [61] Vokou D, Vareli K, Zarali E, Karamanoli K, Constantini-dou HI, Monokrousos N, Halley J, Sainis I. Exploring biodiversity in the bacterial community of the mediterranean phyllosphere and its relationship with airborne bacteria[J]. *Microbiol Ecol*, 2012, 64(3): 714–724.
- [62] Redford AJ, Bowers RM, Knight R, Linhart Y, Fierer N. The ecology of the phyllosphere: geographic and phylogenetic variability in the distribution of bacteria on tree leaves[J]. *Environ Microbiol*, 2010, 12(11): 2885–2893.
- [63] Ding T, Palmer MW, Melcher U. Community terminal restriction fragment length polymorphisms reveal insights into the diversity and dynamics of leaf endophytic bacteria [J]. *BMC Microbiol*, 2013, 13(1): 1–11.
- [64] Bodenhausen N, Horton MW, Bergelson J. Bacterial communities associated with the leaves and the roots of *Arabidopsis thaliana*[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): 118–125.
- [65] Yadav RK, Karamanoli K, Vokou D. Bacterial colonization of the phyllosphere of mediterranean perennial species as influenced by leaf structural and chemical features[J]. *Microbiol Ecol*, 2005, 50(2): 185–196.
- [66] Finkel OM, Burch AY, Elad T, Huse SM, Lindow SE, Post AF, Belkin S. Distance-decay relationships partially determine diversity patterns of phyllosphere bacteria on *Tamarix* trees across the Sonoran Desert (corrected) [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78(17): 6187–6193.
- [67] Jumpponen A, Jones KL. Seasonally dynamic fungal communities in the *Quercus macrocarpa* phyllosphere differ between urban and nonurban environments [J]. *New Phytol*, 2010, 186(2): 496–513.
- [68] Jackson CR, Denney WC. Annual and seasonal variation in the phyllosphere bacterial community associated with leaves of the southern Magnolia (*Magnolia grandiflora*) [J]. *Microbiol Ecol*, 2011, 61(1): 113–122.
- [69] Fierer N, McCain CM, Meir P, Zimmermann M, Rapp JM, Silman MR, Knight R. Microbes do not follow the elevational diversity patterns of plants and animals [J]. *Ecology*, 2011, 92(4): 797–804.
- [70] 荆梦, 宿燕明, 谷立坤, 白志辉, 庄国强, 彭霞薇. 吡虫啉杀虫剂对桃树叶际微生物群落结构的影响[J]. *环境科学与技术*, 2011, 34(5): 1–6.
Jing M, Su YM, Gu LK, Bai ZH, Zhuang GQ, Peng XW. Effects of imidacloprid insecticide on microbial community in peach phyllosphere[J]. *Environmental Science Tech*

nology, 2011, 35(5): 1-6.

- [71] 韩庆莉, 张俊忠, 刘丽, 赵志瑞, 王栋, 白志辉. 敌敌畏及1株高效降解菌对草莓叶际微生物群落结构的影响[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(8): 109-113.
- Han QL, Zhang GJ, Liu L, Zhao ZR, Wang D, Bai ZH. Impacts of dichlorvos and one of its effective degrading strains on microbial community structure in strawberry

phyllosphere[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2013, 41(8): 109-112.

- [72] Penuelas J, Rico L, Ogaya R, Jump AS, Terradas J. Summer season and long-term drought increase the richness of bacteria and fungi in the foliar phyllosphere of *Quercus ilex* in a mixed Mediterranean forest[J]. *Plant Biol*, 2012, 14(4): 565-575.

(责任编辑: 周媛)

欢迎订阅《植物资源与环境学报》

全国中文核心期刊 中国科技核心期刊

中国科学引文数据库核心期刊 RCCSE 中国核心学术期刊(A)

季刊, 单价 20 元, 邮发代号: 28-213,

国内统一连续出版物号: CN 32-1339/S

《植物资源与环境学报》为江苏省中国科学院植物研究所和江苏省植物学会联合主办的学术刊物, 国内外公开发行。本刊为全国中文核心期刊(北大)、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊(CSCD)和 RCCSE 中国核心学术期刊(A), 并为 BA、CA、CAB、Elsevier's、中国生物学文摘、中国环境科学文摘、中国科学引文数据库、万方数据——数字化期刊群、中国学术期刊(光盘版)、超星期刊域出版平台和中文科技期刊数据库等国内外著名刊库收录。2013 年荣获“江苏省首届新闻出版政府奖——期刊奖”; 2014 年荣获“江苏省精品科技期刊”称号; 2015 年荣获“第六届江苏省科技期刊金马奖——精品期刊奖”和“江苏省精品科技期刊”称号。

本刊围绕植物资源与环境两个中心命题, 报道我国植物资源的考察、开发利用和植物物种多样性保护, 自然保护区与植物园的建设和管理, 植物在保护和美化环境中的作用, 环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原始研究论文、研究简报和综述等。凡从事植物学、生态学、自然地理学以及农、林、园艺、医药、食品、轻化工和环境保护等领域的科研、教学、技术人员及决策者均可以从本刊获得相关学科领域的研究进展和信息。

本刊为季刊, 大 16 开本, 每期 120 页。全国各地邮局均可订阅, 每期定价 20 元, 全年 80 元。若错过征订时间或需补齐 1992 年至 2016 年各期者, 请直接与编辑部联系邮购。1992 年至 1993 年每年 8 元; 1994 年至 2000 年每年 16 元; 2001 年至 2005 年每年 24 元; 2006 年至 2008 年每年 40 元; 2009 年至 2011 年每年 60 元; 2012 年至 2016 年每年 80 元(均含邮资, 如需挂号另付挂号费 3 元)。

编辑部地址: 南京中山门外江苏省中国科学院植物研究所内(邮编 210014);

电话: 025-84347014; QQ: 2219161478; E-mail: zwzybjb@163.com。

本刊目前只接收在线投稿, 投稿网址: <http://www.cnbg.net/Tg/Contribute/Login.aspx>, 欢迎使用并提出宝贵意见。

欢迎订阅! 欢迎投稿!