

曹慧娟, 张瑾瑾, 杜 艳, 等. 稻瘟病菌转录因子研究进展[J]. 江苏农业学报, 2019, 35( 6 ): 1493-1500.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.06.031

## 稻瘟病菌转录因子研究进展

曹慧娟<sup>1</sup>, 张瑾瑾<sup>1,2</sup>, 杜 艳<sup>1</sup>, 齐中强<sup>1</sup>, 俞咪娜<sup>1</sup>, 刘永锋<sup>1,2</sup>

(1.江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014; 2.南京农业大学植物保护学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 由稻瘟病菌侵染引起的水稻稻瘟病是严重危害世界各地水稻安全生产的毁灭性真菌病害。转录因子是保证目的基因在特定时间及空间正确表达的调节因子, 在不同生物体基因组序列中占有相当的比重。近年来陆续对稻瘟病菌中不同家族转录因子的生物学功能及其参与的调控网络进行了相关研究, 结果显示转录因子在稻瘟病菌的生长发育和致病过程中扮演着重要角色, 这对深入阐明稻瘟病菌的致病机制和提出新的防控策略提供了理论依据。本文对近年来稻瘟病菌不同家族转录因子的相关研究进展进行了综述。

**关键词:** 稻瘟病菌; 转录因子; 生长发育; 致病性

**中图分类号:** S435.111.4<sup>+</sup>1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-4440(2019)06-1493-08

## Research progress of transcription factors in the rice blast fungus

CAO Hui-juan<sup>1</sup>, ZHANG Jin-jin<sup>1,2</sup>, DU Yan<sup>1</sup>, QI Zhong-qiang<sup>1</sup>, YU Mi-na<sup>1</sup>, LIU Yong-feng<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Rice blast caused by rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* is a destructive disease spreading in cultivated rice globally. Transcription factors (TFs) are the regulators that ensure the correct expression of target genes at a specific time and space, and occupy a considerable proportion in the genome sequence of different organisms. In recent years, the biological functions and regulatory networks of different TFs have been studied. The results showed that TFs played an important role in the development and pathogenesis process of *M. oryzae*. This provides a theoretical basis for further clarifying the infection mechanism and proposing new prevention strategies of the rice blast fungus. This paper reviews the research progress of different TF family in *M. oryzae*.

**Key words:** *Magnaporthe oryzae*; transcription factors; development; pathogenicity

水稻稻瘟病是严重威胁全球水稻安全生产的主要病害之一, 该病害具有地区流行性, 在条件适宜的环境中极易爆发成灾<sup>[1]</sup>。每年由稻瘟病造成的产

量损失占水稻总产量的 10%~30%, 发病严重的地区和年份产量损失甚至达到 80% 以上<sup>[2]</sup>。水稻稻瘟病由丝状子囊真菌稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)侵染引起, 该病原菌的寄主植物包括水稻、小麦、大麦和粟谷等多种禾本科作物<sup>[3]</sup>。稻瘟病菌在不同时期侵染水稻形成苗瘟、叶瘟、穗颈瘟和谷粒瘟, 其中穗颈瘟对水稻产量损失影响最大<sup>[4]</sup>。由于稻瘟病菌对水稻的典型侵染模式, 研究者将两者的相互关系作为研究病原真菌和寄主植物互作的模式之一<sup>[5-8]</sup>。2012 年稻瘟病菌被评选为最具科研和经济价值的十大植物病原真菌之首<sup>[7]</sup>。

收稿日期: 2018-10-29

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0300706); 江苏省青年基金项目(BK20180296); 国家自然科学基金青年基金项目(31601592)

作者简介: 曹慧娟(1988-), 女, 山东临沂人, 博士, 副研究员, 主要从事稻瘟病菌转录因子及稻曲病菌功能基因研究。(Tel) 025-84391810; (E-mail) huijuanco@yeah.net

通讯作者: 刘永锋, (Tel) 025-84391002; (E-mail) liuyf@jaas.ac.cn

稻瘟病菌以无性态完成病害循环过程,其有性态在自然界罕见。分生孢子随风或雨水传播至水稻叶片后,在适宜环境中萌发产生芽管,芽管顶端分化出附着胞,附着胞是稻瘟病菌侵染水稻的特殊结构<sup>[9]</sup>。附着胞成熟过程中,脂类、海藻糖和糖原等物质从分生孢子中转运至附着胞内并分解代谢产生甘油,成熟附着胞细胞膜和细胞壁之间黑色素的沉积使附着胞内积累高浓度的甘油,从而在附着胞中产生巨大的膨压,通过膨压转化的机械压力,附着胞可以穿透寄主植物的表皮和角质层形成侵染钉<sup>[10-11]</sup>。侵染钉扩展形成初级侵染菌丝,侵染菌丝不断向邻近细胞扩展,在植株表面呈现病斑,病斑处新产生的分生孢子又可再次传播进行多次侵染<sup>[4,12]</sup>。

生物体在进化过程中会形成精确的调控体系来确保遗传信息的有序表达,相对于真核生物来说,原核生物的基因组结构较为简单,基因的表达调控主要表现在转录水平上。由于真核生物的转录和翻译在不同时空发生,基因的表达调控主要发生在转录水平和翻译后调控两个方面。转录因子存在于所有生物中,在不同生物体基因组信息中都占有相当的比重,能够特异性结合在基因启动子区域从而起始下游靶标基因的转录<sup>[13]</sup>。一般转录因子蛋白质结构中包括 DNA 识别/结合域和转录激活/抑制域<sup>[14]</sup>。大量的研究表明,转录因子在稻瘟病菌中扮演着重要的角色,不同家族的转录因子协同作用以调控稻瘟病菌生长发育和侵染过程相关基因的有序表达。

## 1 稻瘟病菌转录因子概况

在真菌转录因子数据库中,依据蛋白质结构域预测和 DNA 结合位点分析,鉴定出稻瘟病菌中可能存在的转录因子有 501 个,占稻瘟病菌中编码蛋白质数量(11 069)的 4.53%。真菌中转录因子基因个数一般占基因组中基因总数的 2.00%~7.00%。有趣的是,稻瘟病菌中有 26 个转录因子基因(占转录因子基因总数的 5.30%)在其他物种中没有同源基因,具有物种特异性,这些稻瘟病菌特有的转录因子分属在 9 个转录因子家族<sup>[15]</sup>。

依据 InterPro 分类方法<sup>[16]</sup>将稻瘟病菌中的 501 个转录因子分属到 44 个家族,其中以下 4 个家族占优势:Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> 锌指家族(141 个基因,占 28.1%),

C2H2 锌指家族(94 个基因,占 18.8%),HMG 家族(48 个基因,占 9.6%)和 OB-fold 家族(47 个基因,占 9.4%)。此外,49 个转录因子具有 2 个或 2 个以上 DNA 结合结构域,转录因子蛋白质具有多个结合结构域的现象并不是稻瘟病菌所特有的,其他动物和植物的转录因子也存在类似的现象<sup>[17-18]</sup>。Park 等分析了 206 个稻瘟病菌转录因子(分布在 10 个转录因子家族)的表达水平,对于系统了解转录因子基因在稻瘟病菌生长发育、侵染致病和非生物胁迫中的调控网络有重要指导意义<sup>[15]</sup>。

## 2 Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> 锌指家族转录因子

锌指蛋白是一类含有锌指结构的蛋白质,锌指结构是指 Zn<sup>2+</sup> 结合在半胱氨酸和组氨酸残基,从而与 DNA 相互作用的蛋白质基序。锌指蛋白广泛存在于细菌、真菌、植物和动物中,众多的锌指蛋白组成一个庞大的转录因子家族。目前在各种生物中已经发现了十多种不同的锌指结构。Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> 锌指蛋白是真菌中特有的一类锌指蛋白,1982 年在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中分离到第一个 Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> 锌指蛋白 Gal4p, Gal4p 参与调控半乳糖代谢相关基因的转录<sup>[19]</sup>。Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> 锌指蛋白含有保守结构域 C-X<sub>2</sub>-C-X<sub>6</sub>-C-X<sub>5-12</sub>-C-X<sub>2</sub>-C-X<sub>6-8</sub>-C(C 为半胱氨酸, X 代表任意氨基酸),结合的 DNA 元件的保守序列是单个或重复的三核苷酸序列 CGG<sup>[20]</sup>。Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> 锌指蛋白在真菌中主要参与调控真菌细胞减数分裂、生长发育、初级代谢、次级代谢和药物抗性等过程<sup>[21-22]</sup>。在稻瘟病菌中,Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> 锌指蛋白是数量最多的一类转录因子,主要参与调控稻瘟病菌的生长发育、物质代谢和侵染致病等过程。

Tpc1(Transcription factor for polarity control 1)蛋白中除了含有 Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> 结构域,还含有 Myb 结构域,参与调控稻瘟病菌的极性生长过程。突变体  $\Delta$ tpc1 产孢量严重降低且 26% 的分生孢子呈畸形状态,侵染过程中糖原和脂质的降解延迟以及自噬途径的异常是导致其细胞侵染和定殖缺陷的原因<sup>[23]</sup>。稻瘟病菌附着胞中,Septin 鸟苷三磷酸酶聚合成动态的异寡聚环,提供侵染钉穿透寄主表皮所需的膜弯曲度和硬度<sup>[24]</sup>。Septin-5 定位分析显示突变体  $\Delta$ tpc1 中不能形成完整的肌动蛋白环,说明 Tpc1 参与调节细胞骨架动力学过程。Tpc1 与 Mst12(homeobox 家族转录因子,作用于蛋白激酶 *Pmk1* 的下

游)存在相互作用且共同调控下游靶基因 *NOXD* 的表达,而 *Tpc1* 的核定位也受到蛋白激酶 *Pmk1* 的调节,说明 *Tpc1* 是 MAPK 信号途径的下游转录因子<sup>[23]</sup>。

*Far1* 和 *Far2* 是稻瘟病菌中调控脂质代谢的  $Zn_2Cys_6$  转录因子, $\Delta far1$  和双敲突变体  $\Delta far1far2$  对长链脂肪酸的利用存在缺陷, $\Delta far2$  不仅对长链脂肪酸的利用存在缺陷,在醋酸盐和短链脂肪酸为唯一碳源的培养基上的生长也受到抑制,另外 *Far1* 和 *Far2* 参与调控脂肪酸  $\beta$ -氧化、乙酰辅酶 A 转运、过氧化物酶体形成和乙醛酸循环过程的重要基因的表达<sup>[25]</sup>。*Ara1* 和 *Xlr1* 是稻瘟病菌中调节戊糖代谢的  $Zn_2Cys_6$  家族转录因子<sup>[26-27]</sup>。 $\Delta ara1$  对 *L*-阿拉伯糖的利用有严重缺陷,在含有阿拉伯聚糖和 *L*-阿拉伯糖为唯一碳源的培养基中, $\Delta ara1$  的 *L*-阿拉伯糖还原酶,*L*-阿拉伯糖脱氢酶和 *L*-木酮糖还原酶的活性降低, $\alpha$ -*L*-阿拉伯呋喃糖苷酶的活性严重降低或完全丧失<sup>[26]</sup>。*Xlr1* 调控许多戊糖代谢途径相关基因的表达,突变体对 *D*-木糖和木聚糖的利用存在严重缺陷,但对 *L*-阿拉伯糖和阿拉伯聚糖的利用正常<sup>[27]</sup>。

$Zn_2Cys_6$  家族转录因子基因 *MoCOD1* 和 *MoCOD2* 在稻瘟病菌产孢过程中上调表达显著,Chung 等以 KJ201 为野生菌株得到的突变体  $\Delta Mocod1$  和  $\Delta Mocod2$  的分生孢子产量严重降低, $\Delta Mocod1$  由于分生孢子萌发延迟、附着胞形成和侵染生长的缺陷导致致病力减弱<sup>[28]</sup>。Lu 等以 70-15 为野生菌株得到的突变体  $\Delta Mocod1$  不产生分生孢子且菌丝无致病能力<sup>[29-30]</sup>。*Tra1* ( $Zn_2Cys_6$  家族转录因子基因)与 *MoOsm1* 存在相互作用,该基因的表达受到 *CON7* (C2H2 锌指家族转录因子基因,主要参与调控分生孢子产生过程)的调节,与分生孢子粘附、附着胞形成和致病性相关<sup>[31]</sup>。另外有研究报道, $Zn_2Cys_6$  家族转录因子基因参与 *PIG1* 调控黑色素合成,但尚未经敲除试验验证<sup>[32]</sup>,*MoNIT4* 和 *MoLEU3* 调控分生孢子产生过程, $\Delta Monit4$  和  $\Delta Moleu3$  产孢能力显著降低<sup>[15]</sup>。

Lu 等获得了 104 个  $Zn_2Cys_6$  家族转录因子的基因缺失突变体,发现其中 61 个突变体在生长发育或侵染致病阶段与野生型存在显著表型差异。参与调控菌丝生长的该家族转录因子基因有 27 个,*GCCI*、*GPFI* 以及 *GATI* 对生长影响最为显著,这 3 个突变体菌丝生长抑制率分别为 24.7%、26.2%和 43.5%。

参与调控产孢过程的该家族基因有 25 个,突变体  $\Delta gcc1$  和  $\Delta Mocod1$  完全丧失产孢能力, $\Delta gcc1$  产孢量显著降低且孢子呈畸形状,  $\Delta cnf1$ 、 $\Delta cnf2$ 、 $\Delta cnf3$  和  $\Delta cnf4$  产孢量较野生型有所增加,尤其是  $\Delta cnf1$  的产孢量达到野生型的 20~40 倍。*CNF1* 是目前已报道的对稻瘟病菌产孢过程负调控作用最为显著的基因。大麦及水稻接种试验结果显示,参与调控侵染致病过程的  $Zn_2Cys_6$  转录因子有 7 个:*Mocod1* (突变体  $\Delta Mocod1$ , 不产生分生孢子,菌丝无致病能力)、*gpfl* (突变体  $\Delta gpfl$  分生孢子和菌丝均无致病能力)、*cca1* (突变体  $\Delta cca1$  分生孢子畸形,无致病能力,但菌丝可侵染水稻)、*cnf1* (突变体  $\Delta cnf1$  致病力减弱)、*conx1* (突变体  $\Delta conx1$  不产生分生孢子,菌丝致病能力减弱)、*cnf1* (突变体  $\Delta cnf1$  致病力减弱)、*gtal* (突变体  $\Delta gtal$  致病力减弱)。42.6% (26/61) 的突变体表现多种表型缺陷,尤其是这 7 个与致病相关的转录因子,其突变体在其他生物学阶段也表现一定的缺陷<sup>[29-30]</sup>。

### 3 C2H2 锌指转录因子

与  $Zn_2Cys_6$  蛋白是真菌中特有的一类锌指蛋白不同,C2H2 锌指转录因子广泛存在于动物、植物和真菌等真核生物中,是目前真核生物中研究最为清楚的一类锌指蛋白。该类蛋白质含有一个由大约 30 个氨基酸组成的锌指结构,该结构的保守序列为  $X_2-C-X_{2,4}-C-X_{12}-H-X_{3,5}-H$  (C 为半胱氨酸,H 为组氨酸,X 代表任意氨基酸)<sup>[33]</sup>。C2H2 蛋白是稻瘟病菌中仅次于  $Zn_2Cys_6$  蛋白的第二大转录因子,该转录因子主要参与稻瘟病菌分生孢子产生、信号传导途径及致病过程等。

*MoCrz1* 含有 C2H2 结构域,是稻瘟病菌中  $Ca^{2+}$ /钙调磷酸酶信号途径的下游转录因子,通过钙调磷酸酶的去磷酸化作用激活。只有当环境中存在  $Ca^{2+}$  时,该基因才能够与典型的转录因子定位模式一样定位到细胞核中。突变体  $\Delta Mocrz1$  对环境中的  $Ca^{2+}$  和细胞壁胁迫因子敏感,致病能力丧失的主要原因是附着胞穿透寄主表皮能力的缺陷<sup>[34-35]</sup>。ChIP-chip 试验结果显示,*MoCrz1* 的靶标基因主要与囊泡运输、钙信号途径、小分子物质运输、离子平衡和致病能力等相关<sup>[34]</sup>。

基因芯片技术显示 *Con7* (C2H2 锌指家族转录因子)参与调控致病相关基因 *PTH11* 以及与 *PTH11*



类似的一些 G 蛋白偶联受体的表达<sup>[36]</sup>。Con7 启动子区 T-DNA 插入突变体 con7<sup>-</sup> 与基因敲除突变体  $\Delta$ con7 的表型略有差异,con7<sup>-</sup> 的菌丝生长和产孢能力基本与野生型一致,而  $\Delta$ con7 的菌丝生长减慢,产孢能力相较于野生型存在严重缺陷,con7<sup>-</sup> 中 CON7 转录水平的降低,可能没有完全阻断该基因对产孢过程的调控能力<sup>[36-37]</sup>。

Cos1 蛋白主要参与调控稻瘟病菌产孢结构的分化,基因缺失突变体由于不能形成产孢梗而表现产孢能力缺陷<sup>[37-38]</sup>。Msn2 与 MoOsm1 (Osmotic sensitivity MAP Kinase) 存在相互作用,并且结合于 COS1 启动子区的 AGGGG 和 CCCCT 特异序列。 $\Delta$ msn2 生长减慢、产孢量严重降低并对寄主植物丧失致病能力<sup>[39]</sup>。MoCDTF1 作为 cAMP/PKA 途径的下游转录因子,调控菌丝生长、分生孢子形成和侵染致病过程<sup>[40]</sup>。

利用高通量基因敲除方法,Cao 等<sup>[37]</sup> 敲除得到稻瘟病菌中 47 个 C2H2 转录因子基因缺失突变体,并分析了每个突变体在稻瘟病菌生长发育和致病过程的作用。鉴定到调控菌丝生长基因 22 个,调控分生孢子产量基因 28 个,调控附着胞发育基因 4 个,调控侵染致病过程基因 22 个。VRF1 主要参与调控附着胞后期成熟过程,其突变体由于附着胞呈现畸形状态而完全丧失侵染致病能力; $\Delta$ vrf2 由于附着胞穿透能力减弱和侵染菌丝生长受阻而表现致病性减弱;MoCreA 是稻瘟病菌中糖分解代谢的阻抑因子,当环境中有葡萄糖存在时,通过抑制脂质代谢基因的表达来负调控脂质代谢过程。

## 4 碱性亮氨酸拉链结构转录因子

碱性亮氨酸拉链结构 (Basic leucine zipper, bZIP) 转录因子家族也是动物、植物和微生物中较大的一类转录因子家族,稻瘟病菌基因组序列中预测到 21 个属于该家族的转录因子<sup>[41]</sup>。bZIP 转录因子通常包含 1 个富含碱性氨基酸的区域和 1 个亮氨酸拉链区域,2 个亮氨酸拉链区域能够形成  $\alpha$ -螺旋结构,以二聚体形式结合靶标 DNA,bZIP 转录因子识别的靶标 DNA 启动子的核心序列是 ACGT<sup>[42-43]</sup>。

稻瘟病菌中最先有研究报道的 2 个 bZIP 家族转录因子基因是 MoAPI 和 MoATF1。MoAPI 主要参与氧化压力调节,突变体  $\Delta$ Moap1 的胞外漆酶和过氧化物酶活性降低,分生孢子形态变化、产量骤减,

在孢子萌发和附着胞形成过程中过氧化物酶积累增加,因侵染菌丝扩展受阻而丧失对寄主植物的致病能力<sup>[44]</sup>。MoATF1 同样表现对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 敏感,致病能力下降,通过调节过氧化物酶和漆酶的表达参与应对植物的防御反应过程<sup>[45]</sup>。

Tang 等<sup>[41]</sup> 对稻瘟病菌中除去 MoAPI 和 MoATF1 的另外 19 个 bZIP 家族转录因子基因的功能进行分析,得到 18 个该家族基因缺失突变体(未得到 MoGCN4 的基因突变体)。MoHac1、Mobzip10、Momeab 和 MometR 参与菌丝生长过程,11 个 bZIP 转录因子参与分生孢子产生过程,其中  $\Delta$ Mohac1 产生极少分生孢子,MoHac1、Mobzip10 和 MometR 对稻瘟病菌致病能力的维持必不可少。后续分析结果显示,MoHac1 参与稻瘟病菌中非折叠蛋白质反应信号途径,MoMetR 调节硫元素的利用,MoBzip10 参与调控附着胞膨压累积和侵染菌丝生长过程。MoBzip5 可能通过调控 Rgs 基因的表达进而影响着胞内 cAMP 的含量和对疏水界面的识别,20% 的  $\Delta$ MoBzip5 的分生孢子萌发后形成 2 个附着胞。和构巢曲霉和镰刀菌中的研究结果一致,稻瘟病菌中 MoMeaB 与氮源利用相关<sup>[41]</sup>。Kong 等<sup>[46]</sup> 也对稻瘟病菌中的 bZIP 转录因子基因功能进行了相关研究,突变体表型与 Tang 等的研究结果基本一致,MoBzip02 基因缺失突变体表型与野生型相比没有显著变化。

## 5 同源异型盒结构转录因子

同源异型盒 (Homeobox) 基因在生物进化中高度保守,对生物个体发育和细胞分化起调控作用,最早在果蝇中发现,随后在多种动物、植物和微生物中被发现<sup>[47]</sup>。Homeobox 基因含有 180 个碱基的保守序列,包含螺旋-转角-螺旋 (helix-turn-helix) 结构,该结构可与 DNA 结合以调控下游靶标基因的表达<sup>[48-49]</sup>。

稻瘟病菌基因组数据库中预测到 8 个含有同源异型盒 (Homeobox) 的基因,这些基因主要参与稻瘟病菌生长发育和侵染致病过程<sup>[50]</sup>。Mst12 (即 MoHox8) 作为 MAPK 信号途径中 Pmk1 的下游转录因子,其突变体因附着胞穿透能力缺陷而丧失致病能力<sup>[50-51]</sup>。HTF1 (即 MoHOX2) 的基因缺失突变体可以分化形成分生孢子梗,但失去进一步分化形成分生孢子的能力。尽管突变体  $\Delta$ Mohox2 失去产孢

能力,但侵染过程中菌丝顶端形成的类似附着胞的结构依然能够穿透寄主细胞完成侵染过程,*HTF1*可能通过调控 G-蛋白信号、cAMP、MAPK 等通路来影响产孢过程<sup>[52]</sup>。其他几个同源异型盒(Homeobox)家族基因的缺失突变体中,参与调控菌丝生长的基因有 *MoHOX1*、*MoHOX4* 和 *MoHOX6*。*MoHOX7* 是附着胞分化过程的重要调控转录因子基因,Δ*MoHox7* 分生孢子萌发后芽管生长异常,末端不能正常分化形成附着胞,菌丝末端也存在不能分化形成附着胞的现象,因此该突变体没有致病能力<sup>[50]</sup>。

## 6 其他家族转录因子

bHLH(basic helix-loop-helix)结构域在真核生物中高度保守,动物中 bHLH 家族转录因子分为 A~F 6个组<sup>[53]</sup>。真菌中,综合 49 种子囊菌和 6 种担子菌的共 490 个 bHLH 转录因子,将真菌的 bHLH 基因划分为 12 个亚组(F1~F12)<sup>[54]</sup>。稻瘟病菌基因组序列中预测到 9 个含有 bHLH 结构域的转录因子<sup>[15]</sup>,这 9 个转录因子分布在真菌的 12 个 bHLH 亚组的其中 6 个<sup>[54]</sup>。*Crfl* 蛋白含有 bHLH 结构域,*CRF1* 基因的缺失导致稻瘟病菌对脂质、乙醇、甘油和 L-阿拉伯糖等物质的利用缺陷,突变体 Δ*crfl* 中一些参与脂肪分解、过氧化物酶体 β-氧化、阿拉伯糖代谢、糖异生和甘油代谢等过程的重要基因表达下调。附着胞形成过程中,Δ*crfl* 分生孢子的死亡、脂质转运和降解的延迟、过氧化物酶体和液泡功能的异常均导致突变体附着胞膨压的降低,而稻瘟病菌依赖足够的附着胞膨压穿透寄主角质层。外源添加葡萄糖可以恢复 Δ*crfl* 附着胞膨压和穿透能力,突变体 Δ*crfl* 的致病能力缺陷可以通过添加外源葡萄糖和 D-木糖恢复<sup>[55]</sup>。

APSES 转录因子也是真菌中特有的,APSES 结构域由约 100 个氨基酸组成,并与共有序列(A/T)CGCG(T/A)N(A/C)结合。APSES 结构域可形成典型的螺旋-环-螺旋结构,因此被认为是 bHLH 蛋白的亚家族。由于 APSES 结构域在序列比对时与 bHLH 结构域没有同源性,因此,在真菌转录因子分类时并未将 APSES 转录因子划分到 bHLH 转录因子的 12 个分组中<sup>[54]</sup>。稻瘟病菌中有 4 个 APSES 基因(*MSTU1*、*MGG\_01688*、*MoPCG2* 和 *MoSWI6*)。MSTU1 是稻瘟病菌侵染过程所必须的,基因敲除突变体菌丝生长和分生孢子产生存在缺陷,因糖原和

脂质的转移和降解延迟导致附着胞膨压下降而对寄主植物的致病能力减弱<sup>[56]</sup>。*Moswi6* 与 *Mps1* 存在相互作用,位于 *Mps1*-MAPK 信号途径中,参与调控细胞壁的完整性。Δ*Moswi6* 的菌丝生长缓慢、孢子形态异常,几乎丧失了附着胞形成和对寄主植物的致病能力<sup>[57]</sup>。*MoPCG2* 的突变体菌丝生长减慢,分生孢子产量和孢子萌发率及附着胞形成率均呈下降趋势,侵染钉形成和侵染菌丝的扩展受阻,因此该基因缺失突变体对水稻的致病能力显著减弱<sup>[58]</sup>。

MoMcm1 和 Mig1 是稻瘟病菌中有研究报道的 2 个 MADS 转录因子,Mig1 与 *Mps1* 互作,突变体致病性的丧失是由于次级侵染菌丝的分化和生长受阻<sup>[59]</sup>。MoMcm1 与 *Mst12* 互作,MoMcm1 参与调控疏水表面识别、附着胞形成、有性生殖和致病性过程<sup>[60]</sup>。

Myb1 家族转录因子 Momyb 调控菌丝生长、细胞壁生物合成、分生孢子产生过程,突变体丧失产孢能力,对水稻叶片有致病能力但对水稻根部丧失致病性<sup>[61]</sup>。*Mnh6* 含有 HMG 结构域,调控菌丝生长、产孢、附着胞发育和侵染致病过程,突变体完全丧失致病能力<sup>[62]</sup>。转录因子 *MoSom1* 和 *Mocdtf1* 基因缺失突变体均生长减慢、丧失产孢能力和致病性,*MoSom1*、*Mostu1* 和 *Mocdtf1* 存在相互作用,说明参与 cAMP/PKA 信号途径<sup>[40]</sup>。

## 7 小结

近期的研究结果阐述了稻瘟病菌中几个主要的转录因子家族基因在调控菌丝生长、孢子分化、附着胞形成和侵染寄主植物过程中的作用,但研究结果大都是针对单个或某一家族的相关基因的作用机制,暂时处于对单个基因生物学功能的研究水平,而各类转录因子家族或同个转录因子家族内部基因之间的协同作用或拮抗作用,以及对下游基因的调控网络还有待拓展研究。因此,在现有基因组数据的基础上,研究相关转录因子之间的协同调控作用,以及对下游靶标基因的调控机制,阐释基因调控的整体性,将有助于清晰阐释稻瘟病菌的侵染过程和致病机制,为该病害的防治提供理论参考依据。

稻瘟病菌侵染寄主植物过程中,寄主植物也会形成相应的植物防御系统来抵抗病菌的侵入。目前的研究结果对转录因子在稻瘟病菌-水稻的互作体系中的作用机制亦鲜有提到,因此,从转录因子的调

控角度出发,寻找稻瘟病菌-水稻的互作关系,对于抗稻瘟病育种和研究防病新策略具有重要指导意义。

#### 参考文献:

- [1] 宋兆强,刘 艳,王宝祥,等. 稻瘟病抗性基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi54* 和 *Pi-km* 的育种利用价值评价[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(5): 968-974.
- [2] SKAMNIOTI P, GURR S J. Against the grain: safeguarding rice from rice blast disease [J]. Trends in Biotechnology, 2009, 27(3): 141-150.
- [3] COUCH B C, FUDAL L, LEBRUN M H, et al. Origins of host-specific populations of the blast pathogen *Magnaportheoryzae* in crop domestication with subsequent expansion of pandemic clones on rice and weeds of rice [J]. Genetics, 2005, 170(2): 613-630.
- [4] TALBOT N J. Having a blast: exploring the pathogenicity of *Magnaporthe grisea* [J]. Trends in Microbiology, 1995, 3(1): 9-16.
- [5] CARACUEL-RIOS Z, TALBOT N J. Cellular differentiation and host invasion by the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. Current Opinion in Microbiology, 2007, 10(4): 339-345.
- [6] DEAN R A, TALBOT N J, EBBOLE D J, et al. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. Nature, 2005, 434(7036): 980-986.
- [7] DEAN R, VANKAN J A, PRETORIUS Z A, et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(4): 414-430.
- [8] 王云锋,王春梅,王长秘,等. 外源水杨酸对稻瘟病菌效应蛋白 BAS4 过表达菌株耐受性的影响[J]. 南方农业学报, 2017, 48(12): 2169-2175.
- [9] HAMER J E, HOWARD R J, CHUMLEY F G, et al. A mechanism for surface attachment in spores of a plant pathogenic fungus [J]. Science, 1988, 239(4837): 288-290.
- [10] WANG Z Y, SOANES D M, KERSHAW M J, et al. Functional analysis of lipid metabolism in *Magnaporthe grisea* reveals a requirement for peroxisomal fatty acid beta-oxidation during appressorium-mediated plant infection [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2007, 20(5): 475-491.
- [11] HOWARD R J, FERRARI M A, ROACH D H, et al. Penetration of hard substrates by a fungus employing enormous turgor pressures [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1991, 88(24): 11281-11284.
- [12] HOWARD R J, VALENT B. Breaking and entering: host penetration by the fungal rice blast pathogen *Magnaporthe grisea* [J]. Annual Review of Microbiology, 1996, 50: 491-512.
- [13] 朱玉贤,李 毅,郑晓峰.现代分子生物学[M].北京:高等教育出版社, 2007: 296-306.
- [14] LEWIN B. Genes IX [M]. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers, 2008: 640-643.
- [15] PARK S Y, CHOI J, LIN S E, et al. Global expression profiling of transcription factor genes provides new insights into pathogenicity and stress responses in the rice blast fungus [J]. PLoS Pathogens, 2013, 9(6): e1003350.
- [16] ZDOBNOV E M, APWEILER R. Inter Pro Scan-an integration platform for the signature-recognition methods in Inter Pro [J]. Bioinformatics, 2001, 17(9): 847-848.
- [17] RIECHMANN J L, HEARD J, MARTIN G, et al. Arabidopsis transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes [J]. Science, 2000, 290(5499): 2105-2110.
- [18] KAESTNER K H, KNOCHEL W, MARTINEZ D E. Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors [J]. Genes Development, 2000, 14(2): 142-146.
- [19] JOHNSTON S A, HOPPER J E. Isolation of the yeast regulatory gene GAL4 and analysis of its dosage effects on the galactose melibiose regulon [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1982, 79(22): 6971-6975.
- [20] MACPHERSON S, LAROCHELLE M, TURCOTTE B. A fungal family of transcriptional regulators: the zinc cluster proteins [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2006, 70(3): 583-588.
- [21] GULSHAN K, MOYEROWLEY W S. Multidrug resistance in fungi [J]. Eukaryotic Cell, 2007, 6(11): 1933-1942.
- [22] BROWN D W, BUTCHKO R A, BUSMAN M, et al. The fusarium verticillioides *FUM* gene cluster encodes a Zn(II)<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> protein that affects *FUM* gene expression and fumonisin production [J]. Eukaryotic Cell, 2007, 6(7): 1210-1218.
- [23] GALHANO R, IIIANA A, RYDER L S, et al. Tpc1 is an important Zn(II)<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> transcriptional regulator required for polarized growth and virulence in the rice blast fungus [J]. PLoS Pathogens, 2017, 13(7): e1006516.
- [24] DAGDAS Y F, YOSHINO K, DAGDAS G, et al. Septin-mediated plant cell invasion by the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae* [J]. Science, 2012, 336: 1590-1595.
- [25] BIN YUSOF M T, KERSHAW M J, SOANES D M, et al. FAR1 and FAR2 regulate the expression of genes associated with lipid metabolism in the rice blast fungus *Magnaportheoryzae* [J]. PLoS ONE, 2014, 9(6): e99760.
- [26] KLAUBAUF S, ZHOU M M, LEBRUN M, et al. A novel L-arabinose-responsive regulator discovered in the rice-blast fungus *Pyricularia oryzae* (*Magnaporthe oryzae*) [J]. FEBS Letters, 2016, 590(4): 550-558.
- [27] BATTAGLIA E, KLAUBAUF S, VALLET J, et al. Xlr1 is involved in the transcriptional control of the pentose catabolic pathway, but not hemi-cellulolytic enzymes in *Magnaporthe oryzae* [J]. Fungal Genetics and Biology, 2013, 57: 76-84.
- [28] CHUNGH, CHOI J, PARK S Y, et al. Two conidiation-related Zn(II)<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> transcription factor genes in the rice blast fungus [J]. Fungal Genetics and Biology, 2013, 61: 133-141.



- [29] LU J P, CAO H J, ZHANG L L, et al. Systematic analysis of  $Zn_2Cys_6$  transcription factors required for development and pathogenicity by high-throughput gene knockout in the rice blast fungus [J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(10): e1004432.
- [30] 曹慧娟. 稻瘟病菌  $Zn_2Cys_6$  和 bHLH 家族转录因子功能分析 [D]. 杭州:浙江大学, 2015.
- [31] BRETH B, ODENBACH D, YEMELIN A, et al. The role of the Tra1p transcription factor of *Magnaporthe oryzae* in spore adhesion and pathogenic development [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2013, 57: 11-22.
- [32] TSUJI G, KENMOCHI Y, TAKANO Y, et al. Novel fungal transcriptional activators, Cmr1p of *Colletotrichum lagenarium* and Pig1p of *Magnaporthe grisea*, contain Cys2His2 zinc finger and Zn (II)2Cys6 binuclear cluster DNA-binding motifs and regulate transcription of melanin biosynthesis genes in a developmentally specific manner [J]. *Molecular Microbiology*, 2000, 38(5): 940-954.
- [33] PABO C O, PEISACH E, GRANT R A. Design and selection of novel Cys2His2 zinc finger proteins [J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2001, 70(1): 313-340.
- [34] KIM S, HU J, OH Y, et al. Combining ChIP-chip and expression profiling to model the *MoCRZ1* mediated circuit for Ca/calcieneurin signaling in the rice blast fungus [J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(5): e1000909.
- [35] CHOI J, KIM Y, KIM S, et al. *MoCRZ1*, a gene encoding a calcineurin-responsive transcription factor, regulates fungal growth and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae* [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2009, 46(3): 243-254.
- [36] ODENBACH D, BRETH B, THINES E, et al. The transcription factor Con7p is a central regulator of infection-related morphogenesis in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. *Molecular Microbiology*, 2007, 64(2): 293-307.
- [37] CAO H J, HUANG P Y, ZHANG L L, et al. Characterization of 47 Cys (2)-His (2) zinc finger proteins required for the development and pathogenicity of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *New Phytologist*, 2016, 211(3): 1035-1051.
- [38] ZHOU Z Z, LI G H, LIN C H, et al. Conidiophore stalk-less1 encodes a putative zinc-finger protein involved in the early stage of conidiation and mycelial infection in *Magnaporthe oryzae* [J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 2009, 22(4): 402-410.
- [39] ZHANG H F, ZHAO Q, GUO X X, et al. Pleiotropic function of the putative zinc-finger protein MoMsn2 in *Magnaporthe oryzae* [J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 2014, 27(5): 446-460.
- [40] YAN X, LI Y, WANG C, et al. Two novel transcriptional regulators are essential for infection-related morphogenesis and pathogenicity of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(12): e1002385.
- [41] TANG W, RU Y, HONG L, et al. System-wide characterization of bZIP transcription factor proteins involved in infection-related morphogenesis of *Magnaporthe oryzae* [J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(4): 1377-1396.
- [42] GLOVER J N, HARRISON S C. Crystal-structure of the heterodimeric bzip transcription factor c-Fos-c-Jun bound to DNA [J]. *Nature*, 1995, 373(6511): 257-261.
- [43] IZAWA T, FOSTER R, CHUA N H. Plant bzip protein-DNA binding-specificity [J]. *Journal of Molecular Biology*, 1993, 230(4): 1131-1144.
- [44] GUO M, CHEN Y, DU Y, et al. The bZIP transcription factor MoAP1 mediates the oxidative stress response and is critical for pathogenicity of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(2): e1001302.
- [45] GUO M, GUO W, CHEN Y, et al. The basic leucine zipper transcription factor Moatf1 mediates oxidative stress responses and is necessary for full virulence of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 2010, 23(8): 1053-1068.
- [46] KONG S, PARK S Y, LEE Y H. Systematic characterization of the bZIP transcription factor gene family in the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae* [J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(4): 1425-1443.
- [47] SCHNEUWLY S, KUROIWA A, BAUMGARTNER P, et al. Structural organization and sequence of the homeotic gene Antennapedia of *Drosophila melanogaster* [J]. *The EMBO Journal*, 1986, 5(4): 733-739.
- [48] DESPLAN C, THEIS J, OFARRELL P H. The sequence specificity of homeodomain-DNA interaction [J]. *Cell*, 1988, 54(7): 1081-1090.
- [49] SCOTT M P, TAMKUN J W, HARTZELL G W. The structure and function of the homeodomain [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1989, 989(1): 25-48.
- [50] KIM S, PARK S Y, KIM K S, et al. Homeobox transcription factors are required for conidiation and appressorium development in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(12): e1000757.
- [51] PARK G, XUE G Y, ZHENG L, et al. MST12 regulates infectious growth but not appressorium formation in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, 15(3): 183-192.
- [52] LIU W D, XIE S Y, ZHAO X H, et al. A homeobox gene is essential for conidiogenesis of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 2010, 23(4): 366-375.
- [53] LEDENT V, VERVOORT M. The basic helix-loop-helix protein family: comparative genomics and phylogenetic analysis [J]. *Genome Research*, 2001, 11(5): 754-770.
- [54] SAILSBURY J K, ATCHLEY W R, DEAN R A. Phylogenetic analysis and classification of the fungal bHLH domain [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2012, 29(5): 1301-1318.

- [55] CAO H J, HUANG P Y, YAN Y X, et al. The basic helix-loop-helix transcription factor Crf1 is required for development and pathogenicity of the rice blast fungus by regulating carbohydrate and lipid metabolism [J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(9): 3427-3441.
- [56] NISHIMURAM, FUKADA J, MORIWAKI A, et al. Mstul, an APSES transcription factor, is required for appressorium-mediated infection in *Magnaporthe grisea* [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2009, 73(8): 1779-1786.
- [57] QI Z Q, WANG Q, DOU X Y, et al. MoSwi6, an APSES family transcription factor, interacts with MoMps1 and is required for hyphal and conidial morphogenesis, appressorial function and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(7): 677-689.
- [58] 王大伟. 稻瘟病菌 APSES 转录因子 Pcg2 的作用及其机理的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [59] MEHRABI R, DING S L, XU J R. MADS-box transcription factor Mig1 is required for infectious growth in *Magnaporthe grisea* [J]. *Eukaryotic Cell*, 2008, 7(5): 791-799.
- [60] ZHOU X Y, LIU W D, WANG C F, et al. A MADS-box transcription factor MoMcm1 is required for male fertility, microconidium production and virulence in *Magnaporthe oryzae* [J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 80(1): 33-53.
- [61] DONG Y H, ZHAO Q, LIU X Y, et al. MoMyb1 is required for asexual development and tissue-specific infection in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *BMC Microbiology*, 2015, 15: 37.
- [62] LU J P, FENG X X, LIU X H, et al. Mnh6, a nonhistone protein, is required for fungal development and pathogenicity of *Magnaporthe grisea* [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2007, 44(9): 819-829.

(责任编辑:陈海霞)