

# 玉米瘤黑粉菌效应蛋白靶向宿主致病的功能和作用机制研究进展

王文淼, 高夕全

(南京农业大学农学院/南京农业大学作物遗传与种质创新和利用国家重点实验室/江苏省现代作物生产协同创新中心, 南京 210095)

**摘要:** 玉米瘤黑粉菌是一种活体营养型病原菌, 可侵染玉米地上部分的任何器官并产生瘤状组织, 导致玉米产量大量损失。作为成功侵染宿主的重要手段之一, 效应蛋白在瘤黑粉菌的生长发育、致病力的提高、与宿主的互作及干扰或激活宿主免疫等方面具有重要作用。目前, 效应蛋白的来源、组成和结构特征及其与宿主互作的机制等方面的理解尚不够系统和深入。在简要概述玉米瘤黑粉菌的基础上, 综述瘤黑粉菌利用分泌效应蛋白促进瘤状组织的形成、拮抗宿主玉米的免疫反应、调控宿主代谢等功能和分子机制方面的研究进展, 有助于更好地促进对其他活体营养型病原菌侵染植物机制的理解, 从而为利用操控病原菌提高宿主抗性提供新的策略参考。

**关键词:** 玉米; 效应蛋白; 植物免疫反应; 瘤黑粉菌

**中图分类号:** S435.131

**文献标识码:** A

## Research Advances on the Pathogenicity and Mechanism of *Ustilago maydis* Effector Proteins Targeting Host Maize

WANG Wen-miao, GAO Xi-quan

(College of Agriculture, Nanjing Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement/Jiangsu Collaborative Innovation Center for Modern Crop Production, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** *Ustilago maydis* is a biotrophic fungal pathogen that can induce tumor formation on all types of aboveground organs of maize (*Zea mays* L.). As one of the powerful tools to invade host plants, the effector proteins secreted by *U. maydis* have been known to play important roles in the tumor production and development, enhancing pathogenicity, interaction with the host, and interfering host immunity. At present, it has not been fully and systematically understood about the origin of *U. maydis* effector proteins, their components and the structural features, as well as the mechanisms underlying their interaction with host. Following the brief introduction of *U. maydis*, this review summarizes the recent research progress in the functional and molecular mechanisms underlying the promotion of tumors, the interfering of maize immunity, the regulation of host metabolism by *U. maydis* effector proteins. It will prompt the better understanding of the mechanisms underlying other biotrophic pathogens invading host plants, thereby to provide strategical references for improving host immunity through manipulating the phytopathogens.

**Key words:** Maize; Effector protein; Plant immunity; *Ustilago maydis*

录用日期: 2024-06-06

**基金项目:** 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目“玉米穗上多叶和抗逆性状基因挖掘及青贮专用玉米种质创新”(JBCS[2021]002)、国家重点研发计划战略性科技创新合作专项“中国-肯尼亚主要作物优异基因发掘、品种创新与现代生产技术示范”(2020YFE0202900)

**作者简介:** 王文淼(1999-), 男, 江苏南通人, 硕士。Tel: 18762320802  
E-mail: 1606459538@qq.com

高夕全为本文通信作者。E-mail: xgao@njau.edu.cn

**致谢:** 本研究得到南京农业大学生物信息学中心高性能计算平台的支持。

玉米(*Zea mays* L.)是全球也是我国第一大粮食作物, 同时也是重要的饲料和燃料原材料, 在保障粮食安全上具有重要意义<sup>[1-2]</sup>。玉米在生产上经常面临着多种病虫害的侵害, 从而严重影响其产量和品质。瘤黑粉病是由玉蜀黍黑粉菌(*Ustilago maydis*)侵染玉米引起的一种重要病害, 该病害的主要特点是在植株地上部分产生瘤状物, 在我国东北、西北、华北春玉米区以及黄淮海夏玉米区均会发生, 发病率一般在5%~10%, 严重时造成30%~80%的产量损失<sup>[3]</sup>。近年来, 随着耕作制度的变革, 常年的连作加

上适宜的环境条件,使得瘤黑粉病在我国各大玉米产区有逐渐加重的趋势,对玉米生产造成严重的威胁<sup>[4]</sup>。在农业生产中,一般通过药剂处理、轮作倒茬、加强田间管理和选育抗病品种等方式减轻病害带来的影响<sup>[5]</sup>,通过对病原菌本身进行操控和改造以提高玉米抗瘤黑粉病的研究尚处于初步阶段。瘤黑粉菌属于活体营养型病原菌,主要通过刺激宿主的组织增生并获取活体细胞的营养实现侵染和生长,瘤黑粉菌分泌的效应蛋白(effectors)对其成功侵染、抵抗宿主抗性以及提高致病力等方面具有重要作用。目前,对瘤黑粉菌效应蛋白的来源、组成、结构特征及其与宿主互作的机制等方面的理解不够系统和深入。本文将对瘤黑粉菌利用效应蛋白进行侵染和干扰玉米防御反应的分子机制等方面的研究进展进行综述,增强对利用调控瘤黑粉菌效应蛋白提高玉米抗性机制的理解,从而为培育抗瘤黑粉病玉米品种提供借鉴作用。

## 1 瘤黑粉菌及其侵染机制

玉米瘤黑粉病是由担子菌属的活体营养型病原菌玉蜀黍黑粉菌(瘤黑粉菌, *Ustilago maydis*)侵染所引起,在玉米全部生育期的不同阶段都可以侵染,导致宿主组织形成瘤状物<sup>[6]</sup>,从而造成玉米产量的大量损失和品质的降低。

瘤黑粉菌为双相型真菌,其生活史分为单倍体孢子和双核菌丝体两个阶段,其中单倍体孢子具有腐生性,可通过细胞分裂实现无性生殖;双核菌丝体则是进入宿主细胞后的有性生殖状态<sup>[7]</sup>。瘤黑粉菌侵染玉米组织时,首先为随风飘浮在空气中的孢子落在植物体表面,被宿主信号刺激并开始萌发,完成减数分裂过程,释放出a和b两种交配类型不同的单倍体孢子,接着交配类型不同的单倍体发生核融合形成双核菌丝体,其中a位点通过其编码的信息素和受体来控制单倍体孢子融合,b位点编码1对同源结构域转录因子(bE和bW)决定双核菌丝体的致病性<sup>[8]</sup>。双核菌丝体分化出附着胞作为穿透结构,感染性菌丝从该结构中穿透植物组织表面,以完全被宿主质膜包裹的丝状物形式进入表皮细胞。与其他许多真菌相比,瘤黑粉菌不形成吸器,而是将宿主质膜包裹菌丝表面作为获取营养、交换信号和将宿主修饰分子发送到植物细胞的界面<sup>[9]</sup>,然后迅速穿过表皮层和中叶组织,在靠近叶脉和叶脉内积累增殖。在感染4~5 d后,叶束鞘细胞开始恢复细胞分裂,周围细胞增大,在细胞间能检测到真菌菌丝,接着双核体里面的两个核开始融合,二倍体细胞大量

增殖,慢慢地在质外体内形成巨大的聚集物最终形成瘤。随着瘤黑粉菌菌丝的破裂和黑色孢子的发育成熟,瘤组织破裂,孢子被传播到外界,一次的生命周期完成,进行下一次的侵染<sup>[10]</sup>。

由于宿主植物本身存在复杂的抵抗病原菌的免疫系统,包括植物组织表面存在的细胞壁和角质层等抵御病原菌的物理屏障以及细胞内的先天性免疫系统。因此,通过长期的共进化,病原真菌利用发展出的特有机制去打破屏障或者抵抗宿主免疫系统从而实现成功侵染植物组织<sup>[11-12]</sup>,如瘤黑粉菌通过形成附着胞这一特殊结构,附着胞可通过渗透物质的积累形成较大的压力,使得植物的角质层和细胞壁破裂,从而入侵到植物体内获取营养。效应蛋白是病原菌成功侵染的重要武器之一。

## 2 瘤黑粉菌效应蛋白及其对致病力的贡献

### 2.1 病原菌效应蛋白

经过长期的共进化,植物体进化出了两层先天性免疫系统来应对病原菌的侵染,第一层是病原菌相关分子模式激发的免疫(PAMP-triggered immunity, PTI),通过植物质膜上的模式识别受体PRRs(Pattern recognition receptors)来识别病原体产生的PAMPs(Pathogen-associated molecular patterns)后,触发活性氧(ROS)的爆发、丝裂原激活蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)的激活和植物激素的产生等。PTI在抑制病原菌的入侵方面发挥着突出作用,病原菌为实现侵入,也会采取一些策略去拮抗免疫系统,会通过分泌效应蛋白去抑制或克服PTI途径。效应蛋白是病原微生物产生的一类分泌蛋白<sup>[13]</sup>。根据亚细胞定位,真菌的效应蛋白可分为在胞外空间起作用的质外体效应蛋白和作用于宿主细胞内的胞内效应蛋白两大类<sup>[14]</sup>。当病原体分泌效应蛋白后,为了保护自身不受到病原菌的危害,宿主植物利用其核苷酸结合域、含亮氨酸重复的受体[Nucleotide-binding domain and Leucine-rich repeats (NLR)-containing proteins]直接或者间接地识别效应蛋白,从而激活更强的第二层免疫系统,即效应蛋白激发的免疫(Effector-triggered immunity, ETI)。

作为较早被测序的真菌病原体之一,和其他病原体的基因组相比,瘤黑粉菌有1个约为20 Mb的小单倍体基因组<sup>[15]</sup>,较小的基因组对于鉴定和研究效应蛋白更为简单和方便。Lanver等研究发现,瘤黑粉菌在侵染玉米过程中可表达6 784种蛋白质,其中只有467个含有信号肽、缺乏跨膜结构域的被归

表1 已被报道的瘤黑粉菌效应因子及其功能  
Table 1 Ustilago maydis effectors and their reported functions

效应因子名称 Effector name	效应因子基因ID Effector gene ID	效应因子的定位 Effector localization	效应因子的功能 Effector function	参考文献 Reference
Srt1	UMAG_02374	质外体	与ZmSUT1争抢植物体内的蔗糖	(Wahl et al., 2010)
Cmu1	UMAG_05731	细胞质、细胞核、 保卫细胞	以分支酸为靶点,将其引入苯丙酸途径,从而抑制SA的生物合成	(Djamei et al., 2011)
Pep1	UMAG_01987	质外体	直接靶向玉米过氧化物酶POX12,从而抑制ROS生成能力和早期防御反应	(Hemetsberger et al., 2012)
Pit2	UMAG_01375	质外体	与半胱氨酸蛋白酶CP1、CP2和XCP2相互作用,并直接抑制它们的蛋白水解活性;作为PLCPs的底物,从而反过来阻断PLCP抑制宿主免疫	(Mueller et al., 2013)
	UMAG_01829	质外体	降解玉米体内细胞壁上的木聚糖供自身使用	(Schilling et al., 2014)
Tin2	UMAG_05302	细胞质、细胞核	激活与花青素生物合成有关的基因,将木质素的生物合成转向花青素的生物合成途径,促进真菌的毒力	(Tanaka et al., 2014) (Brefort et al., 2014)
Hxt1	UMAG_05023	细胞皮层	转运葡萄糖和果糖,影响玉米中代谢途径的基因	(Schuler et al., 2015)
See1	UMAG_02239	细胞质、细胞核	与玉米SGT1相互作用,阻断MAPK触发的玉米SGT1磷酸化。并且可能干扰SGT1进入细胞核的运输	(Amev Redkar et al., 2015)
Scp2	UMAG_11938	过氧化物酶体	可能通过维持并确保过氧化物酶体在细胞中的正确分布,从而维持感染过程中自身的活体营养	(Krombach et al., 2018)
Fly1	UMAG_06098	质外体	作用于几丁质酶ZmChiA,裂解几丁质酶	(Ökmen et al., 2018)
Rsp3	UMAG_03274	质外体	与胞外DUF26结构域蛋白AFP1和AFP2相互作用,阻断AFP1的抗真菌活性以保护被感染的菌丝	(Ma et al., 2018)
Cce1	UMAG_12197	质外体	抑制胍胍质的沉积和植物的防御反应	(Seitner et al., 2018)
Sta1	UMAG_12226	质外体 (真菌细胞壁)	改变菌丝细胞壁结构来提高真菌的毒力	(Tanaka et al., 2020)
Jsi1	UMAG_01236	细胞核	Jsi1与TPL/TPRs的WD40结构域相互作用,劫持JA/ET途径来促进其感染植株	(Darino et al., 2021)
Nlt1	UMAG_04778	细胞核	对瘤的形成至关重要	(Lin et al., 2021)
Lep1	UMAG_11940	质外体 (菌丝尖端)	作为细胞壁黏附素,聚集增殖瘤黑粉菌的菌丝、诱导孢子形成相关的形态变化	(Fukada et al., 2021)
Vp1	UMAG_00538	质外体、细胞核	将自身从植物的质外体转移至植物的细胞核	(Hoang et al., 2021)
Mer1	UMAG_03753	细胞核	靶向并促进RFI2的自泛素化活性,从而抑制宿主的防御	(Navarrete et al., 2021)
Rip1	UMAG_04039	细胞质、细胞核	抑制PTI防御反应所诱发的ROS产生	(Indira Saado et al., 2022)
Erc1	UMAG_01829	质外体	水解真菌自身细胞壁所产生的 $\beta$ -1,3-葡聚糖,抑制宿主的PTI反应	(Ökmen et al., 2022)
Nkd1	UMAG_02299	细胞核	与生长素信号的转录共抑制因子TPL/TPRs结合,调控生长素信号促进侵染	(Navarrete et al., 2022)
Tip6	UMAG_11060	细胞核、细胞质	通过EAR基序去招募RELK2去干扰许多转录因子的表达,进而影响瘤的形成	(Huang et al., 2023)
Sts2	UMAG_05318	细胞核	和玉米体内的转录因子ZmNECAP1互作,从而激活玉米体内几种叶片发育调节因子的表达,从而加强肿瘤的形成	(Zuo et al., 2023)

类为假定的分泌蛋白。迄今为止,400多个假定的分泌蛋白仅有一小部分被发现具有功能,定性为效

应蛋白,这些效应蛋白贯穿于瘤黑粉菌的整个生殖生长阶段,不同的效应蛋白在不同阶段具有不同的

功能<sup>[16-17]</sup>,且也只是在某一特定阶段表达量很高。在多数情况下,效应蛋白的缺失不会对瘤黑粉菌的毒力造成影响,只有少数的蛋白缺失造成毒力的显著降低<sup>[18]</sup>。目前,瘤黑粉菌中鉴定出的质外体效应蛋白有 Srt1、Pep1、Pit2 等,胞内效应蛋白有 Cmu1、Tin2、See1 等(表1)。

## 2.2 瘤黑粉菌效应蛋白的修饰

病原菌效应蛋白被分泌之后,很多情况下需要经过翻译后修饰才能具有活性,这些过程包括糖基化、乙酰化和磷酸化等。其中,糖基化在真核生物中是一个高度保守的导致一系列蛋白翻译后的修饰过程。糖基化可以通过影响糖蛋白的折叠、定位和活性等方式来调节蛋白的功能,最常见的糖基化是O-糖基化和N-糖基化。O-糖基化在真菌细胞壁上发挥重要的作用,其变化会影响 $\beta$ -1,3-葡聚糖和几丁质的含量以及分布。O-糖基化蛋白可以感知植物表面的信号,从而激活附着胞形成所需要的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,进而调控病菌对宿主组织的穿透能力<sup>[19]</sup>。在瘤黑粉菌中,O-糖基化途径的基因 *PMT4*(*Protein mannanose transferase 4*)缺失明显降低了其附着胞的形成,进而降低了其穿透宿主的能力,最终导致发病率降低<sup>[20]</sup>。

此外,N-糖基化也发挥着相对重要的作用,瘤黑粉菌中的二硫异构酶 Pdi1(*Protein disulfide isomerase 1*)发生 N-糖基化,可催化效应蛋白生成二硫键<sup>[21]</sup>。当 N-糖基化中关键的酶葡萄糖苷酶 I(Gls1)、葡萄糖苷酶 II  $\beta$ -亚基(Gas2)发生突变后,瘤黑粉菌株的毒力显著降低。通过对菌丝的观察发现,和 Gas1<sup>[22]</sup>一样,Gls1 的缺失突变会导致真菌早期无法和植物建立一个稳定的互作关系,导致菌丝生长有缺陷。Gas2 的缺失导致的 N-糖基化缺陷不会影响植物和真菌的早期相互作用,会导致瘤组织的形成受到抑制,从而降低发病程度<sup>[23]</sup>。

除了糖基化外,乙酰化在瘤黑粉菌侵染植物的过程中也发挥着重要的作用。研究表明,瘤黑粉菌中存在1个组蛋白去乙酰化酶 Hda1(*Histone deacetylase 1*),该蛋白通过影响染色质的结构来抑制瘤黑粉菌侵染植物期间特异大量上调表达的 *mig1* 基因和编码内葡聚糖酶的 *egl1* 基因,从而成功侵染植物,并且猜测对这两个基因的抑制是为了在瘤黑粉菌侵染早期阶段避免被宿主的免疫系统识别,促进在宿主体内定殖,同时确保这些基因在正确的生长阶段和宿主环境中被激活进而发挥作用<sup>[24]</sup>。González 等<sup>[25]</sup>研究也发现,瘤黑粉菌中存在组蛋白乙酰转移酶 Gcn5(*General control non-derepressible 5*),其功能

缺失会导致瘤黑粉菌丧失致病力,无法形成孢子。关于 Gcn5 在瘤黑粉菌侵染植物过程中如何调控效应蛋白发挥功能尚不清楚,还需要进一步研究。

Kaffarnik 等<sup>[26]</sup>在研究中发现,瘤黑粉菌中存在1个多功能的调节蛋白 Prf1(*Pheromone response factor 1*),该蛋白通过磷酸化作用激活 cAMP 依赖性蛋白激酶(PKA)和 MAPK 信号传导途径,其中,Prf1 的磷酸化位点对于 a、b 两种不同交配类型的基因表达至关重要。这种磷酸化的调控机制使得 Prf1 能控制真菌在交配、形态转变和侵染宿主植物过程中的基因表达,从而在瘤黑粉菌的生命周期和致病性过程中发挥着核心作用。

## 2.3 瘤黑粉菌效应蛋白的转运

研究发现,效应蛋白的转运对病原菌的致病力至关重要。Ludwig 等<sup>[27]</sup>发现,瘤黑粉菌中存在着1个由5个效应蛋白(Stp1、Stp2、Stp3、Stp4 和 Pep1)及两个跨膜蛋白(Stp5 和 Stp6)组成的稳定蛋白复合物。这7个蛋白缺失,其中1个即会导致毒力丧失,瘤黑粉菌无法穿透细胞表皮,随之感染过程停止,因此,无法在植株上产生瘤组织。Lanver 等<sup>[28]</sup>发现了类似现象,分泌效应蛋白 Nlt1(*No leaf tumors 1*)的1个移码突变会导致叶片不能形成瘤,且出现明显的花青素积累,说明效应蛋白突变显著降低瘤黑粉菌的毒力。Lin 等<sup>[29]</sup>通过反向遗传学、互补、上位性分析等一系列方式研究造成这一现象的原因,发现 *Nlt1* 的突变体可以在玉米上定殖,不能发生核融合,并且在后期增殖中减弱。因此,单核致病菌株 SG200 突变体侵染植株仅会形成较小的瘤,推测这一蛋白复合物可能具有1个跨膜结构,能够帮助病原菌将效应蛋白转运至宿主细胞内,这种功能在细菌中较为常见,在真菌中却报道较少<sup>[30]</sup>。

瘤黑粉菌效应蛋白除了在前期的生殖生长阶段发挥作用,在后期的定殖过程中也具有功能。Lep1(*Late effector protein*)是在瘤形成过程中高表达的晚期效应因子,也是一种细胞壁黏附素,对瘤黑粉菌的菌丝聚集增殖以及诱导孢子形成相关的形态变化很重要<sup>[31]</sup>,Hoang 等<sup>[32]</sup>发现,另一个瘤黑粉菌晚期高表达的效应蛋白 Vp1(*Virulence promoting 1*)的核定位信号 NLS 序列能将 Vp1 蛋白从植物的质外体转移到植物的细胞核中,使得该效应蛋白在细胞核中发挥作用。关于 Vp1 的靶点、分子机制功能等还需要进一步的探索。

## 2.4 瘤黑粉菌效应蛋白的其他功能

此外,也有一些特殊的蛋白被鉴定出来,如 Scp2(*Sterol carrier protein 2*),该蛋白也发现对瘤的形

成具有重要作用<sup>[33]</sup>。研究发现,Scp2可能通过维持过氧化物酶体来确保过氧化物酶体在细胞中的正确分布,从而维持玉米瘤黑粉菌感染过程中的活体营养。

### 3 瘤黑粉菌效应蛋白拮抗植物免疫的机制

瘤黑粉菌穿透宿主植物细胞后,为了在植物上能更好地定殖并获取营养,通过分泌一系列的效应蛋白去拮抗玉米的PTI免疫反应、干扰玉米的生物合成代谢途径和细胞功能以及调控宿主的代谢途径等手段来满足真菌自身的发育需求,使瘤黑粉菌能在玉米上生存且不断地增殖发展。

#### 3.1 瘤黑粉菌效应蛋白抵御植物的PTI免疫反应

当瘤黑粉菌穿透入侵玉米后,宿主玉米会触发PTI反应来抵御瘤黑粉菌,其中,植物的质外体成为病原菌与植物互作的第一个战场。植物为了保护自身,利用质外体中的植物水解酶和蛋白酶,切割或降解病原菌的一些保守分子,从而触发下游的免疫反应。因此,瘤黑粉菌通过分泌大量的效应蛋白靶向质外体中的水解酶,防止植物的免疫反应被激活。在玉米受到侵染后,其体内的抗真菌蛋白AFP1(Antifungal protein 1)和AFP2(Antifungal protein 2)被迅速诱导表达传输到质外体中靶向真菌的细胞壁,AFP1和AFP2可以靶向瘤黑粉菌细胞壁上的甘露糖蛋白,从而破坏细胞壁的完整性,使真菌细胞释放出能够激发免疫反应的MAMP分子,起到抵御病原菌的作用。瘤黑粉菌为了拮抗宿主的免疫机制,通过分泌效应蛋白Rsp3(Repetitive secreted protein 3)与真菌的菌丝结合,保护菌丝不受到AFP蛋白的侵害,便于后续在植物组织中生殖生长<sup>[34]</sup>。Stal(Small tumor-associated 1)也被发现可以在特定的发育阶段结合到菌丝上从而促进毒力<sup>[35]</sup>。

##### 3.1.1 瘤黑粉菌分泌效应蛋白抵御宿主识别PAMPs

目前,大量研究表明,病原真菌用以抑制宿主免疫信号较为保守的一个机制是分泌能与宿主可溶性几丁质结合的含有LysM(Lysin motif)结构域的效应蛋白,统称为LysM效应物<sup>[36]</sup>。几丁质是真菌细胞壁的重要组成部分,并且被认为是激发植物防御反应的重要因子。植物中也含有LysM结构域的蛋白质,可以识别真菌细胞壁上的几丁质从而激发免疫反应。因此,真菌与宿主的LysM蛋白竞争结合几丁质,从而阻止植物免疫受体对病原菌几丁质的识别<sup>[37]</sup>。番茄的黄茎霉真菌在侵染番茄过程中会大量分泌含有LysM结构域的效应蛋白Ecp6(Extracellu-

lar protein 6),该蛋白可通过结合到几丁质多糖上来阻止几丁质片段被释放和被宿主受体识别,从而达到抑制宿主免疫反应的目的<sup>[38]</sup>。研究发现,瘤黑粉菌含有LysM结构域的蛋白Um11464突变缺失之后菌株毒性增强。通过该突变体侵染植物后的转录组分析发现,um11464突变缺失会显著诱导一些防御反应基因的表达<sup>[39]</sup>。结果表明,瘤黑粉菌可能存在有其他的机制去阻隔可溶性几丁质酶或者保护自己不受植物中几丁质酶的影响。有研究发现,瘤黑粉菌中的Fly1(*Ustilago maydis* fungalysin)可以保护真菌避免这种危害,该效应蛋白可以和植物体内的几丁质酶ZmChiA相互作用,使得几丁质酶裂解,降低几丁质酶的活性,保护自身的细胞壁不被降解从而抑制植物的免疫反应,最终促进真菌的侵染<sup>[40]</sup>。

此外,植物可分泌具有抗菌活性的病程相关蛋白-PR蛋白。研究表明,PR蛋白可以水解真菌的细胞壁,除上述提到的几丁质酶,还有 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶等,这些酶可使真菌的生长受到抑制<sup>[41]</sup>。当真菌入侵植物后,其产生的 $\beta$ -1,3-葡聚糖可被植物细胞中的 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶等分解,导致活性氧的爆发和PR基因表达,真菌自身利用相应的机制去避免这些防御反应的激活。研究表明,在瘤黑粉菌中鉴定到了1个细胞特异性的效应因子Erc1(Enzyme required for cell-to-cell extension),该效应蛋白具有 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性,可水解真菌自身细胞壁所产生的 $\beta$ -1,3-葡聚糖,从而抑制宿主植物的PTI防御反应。这一现象类似于含有LysM结构域的效应蛋白,同时该效应蛋白在所有黑粉菌中都是功能保守的,并且也是病菌在束鞘细胞的细胞间扩展所必须的<sup>[42]</sup>。

##### 3.1.2 效应蛋白抑制胼胝质沉积

当植物受到病原菌侵染时,胼胝质在细胞壁沉积,成为植物细胞有效屏障的初始防御机制之一。Seitner等<sup>[43]</sup>发现,瘤黑粉菌会分泌效应蛋白Cce1(即Stp4),当缺少该蛋白时,植物细胞表面胼胝质沉积,使真菌无法穿透细胞壁。当该蛋白正常分泌时,瘤黑粉菌能够抑制胼胝质的沉积和植物的防御反应,成功侵染植物。另外,该效应蛋白和Pep1类似,二者缺失之后都会导致毒力的缺陷,且都会在穿透第一个表皮细胞中被阻断。关于Cce1是在植物体内具体的分子机制仍不清楚。

##### 3.1.3 瘤黑粉菌分泌效应蛋白抵御活性氧产生

受到病原菌侵染后,植物为了保护自身,会通过被侵染部位活性氧(ROS)的积累来作为第二信使去增强植物的防御反应,因为活性氧能够引起细胞程序性死亡,从而阻止活体营养型病原菌的进一步侵

染。瘤黑粉菌通过分泌一些效应蛋白去抑制活性氧所带来的毒害作用。研究表明,瘤黑粉菌效应蛋白 Pep1(Protein essential for penetration 1)能够与玉米质外体的过氧化物酶 POX12 相互作用,抑制过氧化氢的产生,从而抑制宿主玉米早期的防御反应<sup>[44]</sup>。玉米中属于保守的 E3 连接酶家族的 RFI2,可以调节植物 PAMP 触发的 ROS 爆发,效应蛋白 Mer1(Merope1)可以靶向并促进 RFI2 的自泛素化活性,从而抑制宿主的防御<sup>[45]</sup>。研究还发现,瘤黑粉菌的效应蛋白 Rip1(ROS burst interfering protein 1)也能抑制 PTI 防御反应所诱发的 ROS 产生,并且能靶向玉米的感病基因 *ZmLOX3* 编码的蛋白。同时,Rip1 依赖的玉米感瘤黑粉病的降低能够被 *ZmLOX3* 所克服<sup>[46]</sup>。

### 3.2 瘤黑粉菌分泌效应蛋白干扰植物代谢

#### 3.2.1 瘤黑粉菌分泌效应蛋白促进从宿主获取营养

作为活体营养型病原菌,瘤黑粉菌入侵植物后,需要不断地从玉米中获取营养物质来维持生长。研究表明,可溶性糖和淀粉在瘤组织中会大量的积累,并且瘤组织中的糖积累程度和植物中糖代谢的基因差异表达是一致的。

在受到瘤黑粉菌侵染后,玉米植株会上调局部的 *SWEET*(*Sugars will eventually be exported transporter*)的转录水平,利用 *SWEET* 转运蛋白将植物中的糖转运到真菌植物细胞界面<sup>[47]</sup>。劫持糖转运体是获取植物碳水化合物途径的第一步,随后还需要瘤黑粉菌分泌的效应蛋白将糖从植物中吸收到真菌的细胞质中<sup>[48]</sup>。与此同时,植物启动的 PTI 机制会通过影响代谢物来抵御病原菌的入侵。为了克服该防御机制,瘤黑粉菌会通过和植物争抢有机碳源、氮源等营养物质提供给自己用于生长发育。瘤黑粉菌进入植物组织后,需要和植物细胞共存于质外体空间里,形成了 1 个真菌/植物细胞界面,真菌分泌的糖转运蛋白和玉米里的糖转运蛋白在该界面竞争糖。Wahl 等<sup>[48]</sup>研究发现,在瘤黑粉菌中共有 19 个糖转运蛋白,仅有两个效应蛋白的缺失会对菌株的毒力产生影响,其中,1 种蔗糖转运蛋白 *Srt1*(*Sucrose transporter 1*)比玉米糖转运蛋白 *ZmSUT1* 具有更高的蔗糖亲和力。因此,*UmSrt1* 可以更好地利用质外体的蔗糖,从而使植物不断地从韧皮部输出蔗糖,同时韧皮部的高浓度蔗糖对于 *ZmSUT1* 发挥功能不利。通过转录组研究也发现,*ZmSUT1* 在受到瘤黑粉菌侵染的叶片组织中转录水平显著降低。此外,该转运蛋白可直接获取蔗糖,不需要将蔗糖水解,有利于瘤黑粉菌对碳源的获取利用。同时,不将蔗糖水解成单糖,还可以避免由于产生的单糖作为信号分子,引发

PTI 相关防御基因被诱导表达<sup>[49]</sup>,这也更利于瘤黑粉菌在植物体内的生殖生长。Schuler 等<sup>[50]</sup>鉴定到另外 1 个会影响毒力的糖转运蛋白 *Hxt1*(*Hexose transporter 1*),发现该蛋白除了用于转运葡萄糖和果糖外,还会影响玉米中代谢途径的基因,在侵染植物后,*Hxt1* 会介导相关信号途径导致葡萄糖抑制基因的下调表达,同时还使得玉米中已被证明的在葡萄糖消耗时诱导表达的 3 种己糖转运基因被下调表达。此外,瘤黑粉菌分泌 *Umag01829* 效应蛋白去降解玉米体内细胞壁上的木聚糖供自身使用<sup>[51]</sup>。由于玉米中的糖分被瘤黑粉菌抢夺,使得原本运输到各个库的养分变少,最终导致没有足够的养分供给果穗,造成玉米产量大幅减少。

#### 3.2.2 瘤黑粉菌分泌效应蛋白干扰次生代谢物合成

除了糖代谢途径外,在受到侵染的植物体内,苯丙烷途径相关的代谢产物如木质素<sup>[52]</sup>、花青素<sup>[53]</sup>、莽草酸<sup>[54]</sup>等在植物体内也会被强烈诱导。因此,瘤黑粉菌还会通过干扰次生代谢途径来促进其定殖,其中,木质化程度的降低对真菌在感染组织中的扩展十分重要。研究发现,*Tin2*(*Tumor inducing 2*)在玉米细胞内和蛋白激酶 *ZmTTK1*(*Tin2-targeting kinase 1*) 相互作用,诱导花青素的产生,花青素生物合成的诱导被认为会消耗香豆酸合成的水平,而香豆酸是木质素合成的前体,从而抑制木质素的合成降低植物的木质化程度<sup>[55]</sup>。

### 3.3 瘤黑粉菌分泌效应蛋白影响防御激素途径

植物激素作为植物自身的内源代谢物,是重要的信号因子,以极微量的浓度在植物生长发育和逆境胁迫中起非常重要的作用,其中,水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)和乙烯(ET)在介导植物对病原菌的防御反应中起到主要的作用,它们的含量随着病原菌的侵染而增加<sup>[56]</sup>。瘤黑粉菌侵染玉米过程中,植物激素的合成会被激活,从而调控植物的免疫反应。在瘤黑粉菌侵染的早期,植物体内的激素会失衡,通过对感染后的植物体内激素含量测定发现,受到侵染后的植株内源激素的含量(包括 SA、JA 等)在短时间内会迅速升高来响应生物胁迫。通过转录组分析发现,水杨酸、乙烯和茉莉酸等激素信号转导途径在感染过程中起到重要作用<sup>[57]</sup>。于是,瘤黑粉菌需要进化出相应的操纵植物防御相关激素信号的策略,来增加植物的易感性并导致感染。

#### 3.3.1 效应蛋白干扰生长素途径

大量研究表明,生长素水平的增加会导致植物对几种活体营养型病原菌的易感,并且也鉴定到靶向生长素相关的效应物<sup>[58-59]</sup>。比如,丁香假单胞菌

的效应物 AvrRpt2 会通过降解生长素/吲哚乙酸蛋白来启动生长素信号的传导<sup>[60]</sup>。研究发现,生长素能够促进植物对瘤黑粉菌的感病情况,因为在瘤的生长发育过程中,生长素的合成和生长素信号途径的基因被诱导转录,生长素的含量也升高<sup>[61]</sup>。Schurack 等<sup>[62]</sup>发现,瘤黑粉菌分泌的效应蛋白 Umag02297 可能会靶向生长素反应过程。Navarrete 等<sup>[63]</sup>研究发现,瘤黑粉菌的效应蛋白 Nkd1(Naked1)可通过与生长素信号的转录共抑制因子 TPL(Topless)/TPRs(Topless-related)结合,从而劫持生长素信号促进侵染。同时,该效应蛋白也能够抑制活性氧的爆发。Bindics 等<sup>[64]</sup>发现,瘤黑粉菌中存在 5 个基因 *Tip1-Tip5* 组成的 1 个集群,这 5 个基因编码的蛋白质可以与玉米的 Topless 蛋白结合,在不影响植物体内其他信号途径的情况下去干扰生长素信号途径。植物辅抑制因子家族中的 TPL/TPR 蛋白是传递 JA、ET、IAA 等信号的重要蛋白,越来越多的能与 TPL/TPR 互作的效应蛋白被鉴定出来,其中,Tip6、7、8 被发现能与 TPL/TPR 的同源蛋白 RELK2 互作<sup>[65]</sup>,且 Tip6 被表征功能,发现 Tip6 会通过自身的两个 EAR 基序去招募 RELK2 的 N 端去干扰许多转录因子的表达,进而影响瘤组织的形成<sup>[66]</sup>。Tip6 过表达后植株具有生长素信号诱导的能力,表明 Tips 不会简单地和 TPL 作用,因此,研究 Tips 靶向的生物学过程及其潜在的机制将是一个很大挑战。

### 3.3.2 效应蛋白干扰水杨酸途径

水杨酸在植物防御中可作为生长素途径的拮抗剂,可抑制真菌的生长发育,水杨酸作为一种关键的植物防御激素,是触发植物局部和全身抗性的信号分子<sup>[67]</sup>。大量研究表明,水杨酸在活体营养型病原菌的防卫反应中起到调节作用。通过对玉米植株进行水杨酸前处理发现,其可以有效抑制瘤黑粉菌在植物体内繁殖<sup>[68]</sup>。研究发现,瘤黑粉菌会分泌效应蛋白 Cmu1(Chorismate mutase 1)。Cmu1 是属于 AroQ 类的分支酸变位酶,能与玉米体内的 ZmCm2(Chorismate mutase 2)发生协同作用,促进质体内分支酸的外流,使得质体中用于水杨酸合成的底物减少,进而促进瘤黑粉菌的侵染<sup>[68]</sup>。除此以外,瘤黑粉菌编码水杨酸水解酶 Shy1(Salicylate hydroxylases 1)<sup>[69]</sup>的基因转录水平能够被水杨酸强烈的诱导上调表达,且还可以降解利用水杨酸作为碳源来供自身生长。

玉米半胱氨酸蛋白酶 PLCPs(Papain-like cysteine proteases)在水杨酸依赖性防御信号途径中至关重要,能够调节植物防御、驱动细胞死亡和抵御活体营养型病原菌,而瘤黑粉菌效应因子 Pit2(Protein in-

involved in tumors 2)抑制 PLCPs 对于其侵染植物是必不可少的<sup>[70]</sup>。Pit2 是 1 个含有蛋白酶抑制结构域 PID14 的效应蛋白,可作为 PLCPs 的底物,当 PLCPs 识别切割 Pit2 后,不含半胱氨酸残基的 Pit2 蛋白会在质外体中被迅速降解。半胱氨酸残基是维持胞外体中蛋白质的完整性和稳定性所不可缺少的,也是寻找假定分泌效应蛋白的一个重要标志。同时,Pit2 作为 1 个分泌蛋白,应该在质外体中保持稳定,从而实现其能够抑制 PLCPs 的功能。研究发现,与其他效应蛋白不同,Pit2 在被切割后,PID14 基序内的抑制部分会与 PLCPs 紧密结合,不会被释放,从而产生抑制作用。所以 Pit2 会作为合适的底物去“吸引”PLCPs,接着 PLCPs 会处理 Pit2 使其释放抑制部分,从而阻止 PLCPs 介导的免疫反应发生<sup>[71]</sup>。这一发现打破了对分泌效应蛋白作用植物的传统认识,提示效应蛋白会通过各种手段去抑制植物的免疫反应。

### 3.3.3 效应蛋白干扰茉莉酸途径

常见的植物激素之间的拮抗除了生长素和水杨酸之间的拮抗,还有茉莉酸和水杨酸之间的拮抗作用。茉莉酸在病原菌抗性中的功能主要集中于对死体营养型病原菌和半活体营养型病原菌方面,而在活体营养型病原菌方面的功能和机制不清楚。研究表明,当受到瘤黑粉菌的侵染后,茉莉酸信号被立即诱导,典型的茉莉酸反应防御基因如防御素等被激活。有研究表明,瘤黑粉菌也会分泌一种效应蛋白去劫持对死体营养型病原菌的防卫反应起作用的茉莉酸途径。Darino 等<sup>[72]</sup>发现,瘤黑粉菌分泌含有 EAR motif 的效应蛋白 Jsi1(Jasmonate/Ethylene signaling inducer 1),该效应蛋白可以与 TPL/TPRs 蛋白互作,影响 ERF 转录因子的抑制活性,从而劫持 JA/ET 途径来促进其感染植株。

## 3.4 瘤黑粉菌分泌效应蛋白影响植物体内的转录调控

Redkar 等<sup>[73]</sup>发现,效应蛋白 See1(Seedling efficient effector 1)被真菌转运到玉米的细胞质和细胞核中,与 SGT1(Suppressor of G2 allele of SKP1)蛋白相互作用,干扰 MAPK 诱导的 STG1 的磷酸化,参与受感染玉米叶片 DNA 合成的再激活,有助于瘤组织的形成。瘤细胞特异性表达的效应蛋白 Sts2(Small tumor on seedlings 2)<sup>[74]</sup>具有转录活性,可以和玉米体内的转录因子 ZmNECAP1 互作,从而激活几种叶片发育调节因子的表达,促进瘤的形成。上述提到的 Tip6 也能够通过影响植物体内的转录调控进而影响瘤的形成。研究表明,Tip6 通过 EAR 抑制基序与

RELK2辅抑制因子相互作用,将RELK2的定位从细胞核转移至细胞质中,从而干扰其抑制AP2/ERF家族转录因子,促进瘤的形成;当Tip6的EAR基序突变后,无法与RELK2相互作用,这种相互作用的缺失使得AP2/ERF家族转录因子的错误调控,致使瘤形成受损。

## 4 展 望

瘤黑粉菌因为其易于培养和遗传转化的特点被作为模式生物得到了广泛的研究,结合高通量测序、生物信息学分析和反向遗传学等技术,使得瘤黑粉菌的生殖生长机制、侵染植物过程以及与宿主植物的互作模式不断地被表征出来。这一过程也为其他病原菌的研究提供了借鉴,关于瘤黑粉菌的效应蛋白方面的研究存在一些亟待解决的问题。第一,目前,有多个瘤黑粉菌效应蛋白的功能得到了表征,对于那些未知功能的分泌蛋白来说只是冰山一角。效应蛋白是病原菌致病力研究的基础,如果只依赖单独的敲除这将是一个庞大的工程,基因编辑技术CRISPR-Cas9在瘤黑粉菌敲除效应蛋白上的应用加快了这一研究进程<sup>[75]</sup>。除此之外,同源物种之间的基因组比较分析对于在未知功能效应蛋白的筛选方面也起到很大的帮助,能够将范围进一步地缩小<sup>[76]</sup>。那么,是否还有更高效的方法能够提高效应蛋白的敲除突变的效率还有待研究。第二,目前,已报道的与植物互作的瘤黑粉菌效应蛋白中,大部分的效应蛋白都是通过各种途径去抑制植物的PTI免疫反应,未见关于瘤黑粉菌分泌效应蛋白去抵御植物ETI途径的报道,也未见瘤黑粉菌诱导ETI途径的报道。瘤黑粉菌能够成功导致植株发病,推测其具有未被解析的对抗植物ETI免疫途径的策略,这一点还有待深入研究。第三,关于瘤黑粉菌的效应蛋白在植物体内的结束机制仍不清楚。高通量技术的不断发展和多组学联合研究的广泛应用,为深度解释瘤黑粉菌-玉米互作提供了有利条件,这些难题必将会得到解决。

### 参考文献:

- [1] LUO N, MENG Q, FENG P, et al. China can be self-sufficient in maize production by 2030 with optimal crop management[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 2637.
- [2] RANUM P, PEÑA-ROSAS J P, GARCIA-CASAL M N. Global maize production, utilization, and consumption[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2014, 1312(1): 105-112.
- [3] 鄂文弟,王振华,张立国,等. 玉米瘤黑粉病的研究进展[J]. *玉米科学*, 2006, 14(1): 153-157.
- [4] E W D, WANG Z H, ZHANG L G, et al. The advances in the re- search of common smut in maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2006 (1): 153-157. (in Chinese)
- [5] 王铁兵,王鹏,王婷,等. 玉米抗瘤黑粉病生理生化特性及基因表达分析[J]. *玉米科学*, 2022, 30(6): 165-171, 178.
- [6] WANG T B, WANG P, WANG T, et al. Analysis of physiological and biochemical characteristics and gene expression of maize resistance to common smut[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2022, 30(6): 165-171, 178. (in Chinese)
- [7] PATAKY J, SNETSELAAR K. Common smut of corn(syn. boil smut, blister smut)[J]. *The Plant Health Instructor*, 2006, 78(4): 112.
- [8] MARTÍNEZ-ESPINOZA A D, GARCÍA-PEDRAJAS M A D, GOLD S E. The ustilaginales as plant pests and model systems[J]. *Fungal Genetics Biology*, 2002, 35(1): 1-20.
- [9] FELDBRÜGGE M, KÄMPER J, STEINBERG G, et al. Regulation of mating and pathogenic development in *Ustilago maydis*[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2004, 7(6): 666-672.
- [10] LIN J S, HAPPEL P, KAHMANN R. Nuclear status and leaf tumor formation in the *Ustilago maydis*-maize pathosystem[J]. *New Phytologist*, 2021, 231(1): 399-415.
- [11] DJAMEI A, KAHMANN R. *Ustilago maydis*: dissecting the molecular interface between pathogen and plant[J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8 (11): e1002955.
- [12] LANVER D, TOLLOT M, SCHWEIZER G, et al. *Ustilago maydis* effectors and their impact on virulence[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(7): 409-421.
- [13] DEAN R A. Signal pathways and appressorium morphogenesis[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1997, 35(1): 211-34.
- [14] HOWARD R J, VALENT B. Breaking and entering: host penetration by the fungal rice blast pathogen *magnaporthe grisea*[J]. *Annual Reviews in Microbiology*, 1996, 50(1): 491-512.
- [15] HOGENHOUT S A, VAN DER HOORN R A, TERAUCHI R, et al. Emerging concepts in effector biology of plant-associated organisms[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 2009, 22(2): 115-122.
- [16] GIRALDO M C, VALENT B. Filamentous plant pathogen effectors in action[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(11): 800-814.
- [17] KÄMPER J, KAHMANN R, BÖLKER M, et al. Insights from the genome of the biotrophic fungal plant pathogen *Ustilago maydis*[J]. *Nature*, 2006, 444(7115): 97-101.
- [18] MA L-S, WANG L, TRIPPEL C, et al. The *Ustilago maydis* repetitive effector Rsp3 blocks the antifungal activity of mannose-binding maize proteins[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 1711.
- [19] REDKAR A, HOSER R, SCHILLING L, et al. A secreted effector protein of *Ustilago maydis* guides maize leaf cells to form tumors[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(4): 1332-1351.
- [20] BREFORT T, TANAKA S, NEIDIG N, et al. Characterization of the largest effector gene cluster of *Ustilago maydis*[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(7): e1003866.
- [21] LIU C, TALBOT N J, CHEN X L. Protein glycosylation during infection by plant pathogenic fungi[J]. *New Phytologist*, 2021, 230(4): 1329-1335.
- [22] FERNANDEZ-ALVAREZ A, ELIAS-VILLALOBOS A, IBEAS J I. The O-mannosyltransferase PMT4 is essential for normal appres-

- sorium formation and penetration in *Ustilago maydis*[J]. The Plant Cell, 2009, 21(10): 3397–3412.
- [21] MARÍN-MENGUIANO M, MORENO-SÁNCHEZ I, BARRALES R R, et al. N-glycosylation of the protein disulfide isomerase Pdi1 ensures full *Ustilago maydis* virulence[J]. PLoS Pathogens, 2019, 15(11): e1007687.
- [22] SCHIRAWSKI J, BOHNERT H U, STEINBERG G, et al. Endoplasmic reticulum glucosidase II is required for pathogenicity of *Ustilago maydis*[J]. The Plant Cell, 2005, 17(12): 3532–3543.
- [23] FERNÁNDEZ-ÁLVAREZ A, ELÍAS-VILLALOBOS A, JIMÉNEZ-MARTÍN A, et al. Endoplasmic reticulum glucosidases and protein quality control factors cooperate to establish biotrophy in *Ustilago maydis*[J]. The Plant Cell, 2013, 25(11): 4676–4690.
- [24] TORREBLANCA J N, STUMPFERL S, BASSE C W. Histone deacetylase Hda1 acts as repressor of the *Ustilago maydis* biotrophic marker gene mig1[J]. Fungal Genetics Biology, 2003, 38(1): 22–32.
- [25] GONZÁLEZ-PRIETO J M, ROSAS-QUIJANO R, DOMÍNGUEZ A, et al. The *UmGcn5* gene encoding histone acetyltransferase from *Ustilago maydis* is involved in dimorphism and virulence[J]. Fungal Genetics Biology, 2014, 71: 86–95.
- [26] KAFFARNIK F, MÜLLER P, LEIBUNDGUT M, et al. PKA and MAPK phosphorylation of Prf1 allows promoter discrimination in *Ustilago maydis*[J]. The EMBO Journal, 2003, 22(21): 5817–5826.
- [27] LUDWIG N, REISSMANN S, SCHIPPER K, et al. A cell surface-exposed protein complex with an essential virulence function in *Ustilago maydis*[J]. Nature Microbiology, 2021, 6(6): 722–730.
- [28] LANVER D, MÜLLER A N, HAPPEL P, et al. The biotrophic development of *Ustilago maydis* studied by RNA-seq analysis[J]. The Plant Cell, 2018, 30(2): 300–323.
- [29] LIN J S, HAPPEL P, KAHMANN R. Nuclear status and leaf tumor formation in the *Ustilago maydis* - maize pathosystem[J]. New Phytologist, 2021, 231(1): 399–415.
- [30] RAPISARDA C, FRONZES R. Secretion systems used by bacteria to subvert host functions[J]. Current Issues in Molecular Biology, 2018, 25(1): 1–42.
- [31] FUKADA F, RÖSSEL N, MÜNCH K, et al. A small *Ustilago maydis* effector acts as a novel adhesin for hyphal aggregation in plant tumors[J]. New Phytologist, 2021, 231(1): 416–431.
- [32] HOANG C V, BHASKAR C K, MA L S. A novel core effector Vp1 promotes fungal colonization and virulence of *Ustilago maydis*[J]. Journal of Fungi, 2021, 7(8): 589.
- [33] KROMBACH S, REISSMANN S, KREIBICH S, et al. Virulence function of the *Ustilago maydis* sterol carrier protein 2[J]. New Phytologist, 2018, 220(2): 553–566.
- [34] MA L-S, WANG L, TRIPPEL C, et al. The *Ustilago maydis* repetitive effector Rsp3 blocks the antifungal activity of mannose-binding maize proteins[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 1711.
- [35] TANAKA S, GOLLIN I, RÖSSEL N, et al. The functionally conserved effector Sta1 is a fungal cell wall protein required for virulence in *Ustilago maydis*[J]. New Phytologist, 2020, 227(1): 185–199.
- [36] DE JONGE R, THOMMA B P. Fungal LysM effectors: extinguishers of host immunity?[J]. Trends in Microbiology, 2009, 17(4): 151–157.
- [37] SÁNCHEZ-VALLET A, SALEEM-BATCHA R, KOMBRINK A, et al. Fungal effector Ecp6 outcompetes host immune receptor for chitin binding through intrachain LysM dimerization[J]. Elife, 2013, 2: e00790.
- [38] DE JONGE R, PETER VAN ESSE H, KOMBRINK A, et al. Conserved fungal LysM effector Ecp6 prevents chitin-triggered immunity in plants[J]. Science, 2010, 329(5994): 953–955.
- [39] STOLLE N. Funktionelle charakterisierung eines LysM-Proteins von *Ustilago maydis*[M]. 2013, doi: 10.17192/z2013.0377.
- [40] OKMEN B, KEMMERICH B, HILBIG D, et al. Dual function of a secreted fungalysin metalloprotease in *Ustilago maydis*[J]. New Phytologist, 2018, 220(1): 249–261.
- [41] VAN LOON L C, REP M, PIETERSE C M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants[J]. Annu Rev Phytopathol, 2006, 44: 135–162.
- [42] ÖKMEN B, JAEGER E, SCHILLING L, et al. A conserved enzyme of smut fungi facilitates cell-to-cell extension in the plant bundle sheath[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 6003.
- [43] SEITNER D, UHSE S, GALLEI M, et al. The core effector Cce1 is required for early infection of maize by *Ustilago maydis*[J]. Molecular Plant Pathology, 2018, 19(10): 2277–2287.
- [44] HEMETSBERGER C, HERRBERGER C, ZECHMANN B, et al. The *Ustilago maydis* effector Pep1 suppresses plant immunity by inhibition of host peroxidase activity[J]. PLoS Pathogens, 2012, 8(5): e1002684.
- [45] NAVARRETE F, GRUJIC N, STIRNBERG A, et al. The pleiades are a cluster of fungal effectors that inhibit host defenses[J]. PLoS Pathogens, 2021, 17(6): e1009641.
- [46] SAADO I, CHIA K S, BETZ R, et al. Effector-mediated relocation of a maize lipoxygenase protein triggers susceptibility to *Ustilago maydis*[J]. Plant Cell, 2022, 34(7): 2785–2805.
- [47] SOSSO D, VAN DER LINDE K, BEZRUTCZYK M, et al. Sugar partitioning between *Ustilago maydis* and its host *zea mays* L during infection[J]. Plant Physiology, 2019, 179(4): 1373–1385.
- [48] WAHL R, WIPPEL K, GOOS S, et al. A novel high-affinity sucrose transporter is required for virulence of the plant pathogen *Ustilago maydis*[J]. PLoS Biology, 2010, 8(2): e1000303.
- [49] ROLLAND F, BAENA-GONZÁLEZ E, SHEEN J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms[J]. Annu Rev Plant Biol, 2006, 57: 675–709.
- [50] SCHULER D, WAHL R, WIPPEL K, et al. Hxt1, a monosaccharide transporter and sensor required for virulence of the maize pathogen *Ustilago maydis*[J]. New Phytologist, 2015, 206(3): 1086–1100.
- [51] SCHILLING L, MATEI A, REDKAR A, et al. Virulence of the maize smut *Ustilago maydis* is shaped by organ-specific effectors [J]. Molecular Plant Pathology, 2014, 15(8): 780–789.
- [52] DOEHLEMANN G, WAHL R, HORST R J, et al. Reprogramming a maize plant: transcriptional and metabolic changes induced by the fungal biotroph *Ustilago maydis*[J]. The Plant Journal, 2008, 56(2): 181–195.

- [53] MATEI A, ERNST C, GÜNL M, et al. How to make a tumour: cell type specific dissection of *Ustilago maydis*-induced tumour development in maize leaves[J]. *New Phytologist*, 2018, 217(4): 1681–1695.
- [54] RUAN X, MA L, ZHANG Y, et al. Dissection of the complex transcription and metabolism regulation networks associated with maize resistance to *Ustilago maydis*[J]. *Genes*, 2021, 12(11): 1789.
- [55] TANAKA S, BREFORT T, NEIDIG N, et al. A secreted *Ustilago maydis* effector promotes virulence by targeting anthocyanin biosynthesis in maize[J]. *Elife*, 2014, 3: e01355.
- [56] BARI R, JONES J D. Role of plant hormones in plant defence responses[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69: 473–488.
- [57] ZOU K, LI Y, ZHANG W, et al. Early infection response of fungal biotroph *Ustilago maydis* in maize[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 970897.
- [58] MUTKA A M, FAWLEY S, TSAO T, et al. Auxin promotes susceptibility to *Pseudomonas syringae* via a mechanism independent of suppression of salicylic acid-mediated defenses[J]. *The Plant Journal*, 2013, 74(5): 746–754.
- [59] WANG D, PAJEROWSKA-MUKHTAR K, CULLER A H, et al. Salicylic acid inhibits pathogen growth in plants through repression of the auxin signaling pathway[J]. *Current Biology*, 2007, 17(20): 1784–1790.
- [60] CUI F, WU S, SUN W, et al. The *Pseudomonas syringae* type III effector AvrRpt2 promotes pathogen virulence via stimulating arabinoside auxin/indole acetic acid protein turnover[J]. *Plant Physiology*, 2013, 162(2): 1018–1029.
- [61] REINEKE G, HEINZE B, SCHIRAWSKI J, et al. Indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis in the smut fungus *Ustilago maydis* and its relevance for increased IAA levels in infected tissue and host tumour formation[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2008, 9(3): 339–355.
- [62] SCHURACK S, DEPOTTER J R, GUPTA D, et al. Comparative transcriptome profiling identifies maize line specificity of fungal effectors in the maize-*Ustilago maydis* interaction[J]. *The Plant Journal*, 2021, 106(3): 733–752.
- [63] NAVARRETE F, GALLEI M, KORNIENKO A E, et al. TOPLESS promotes plant immunity by repressing auxin signaling and is targeted by the fungal effector Naked1[J]. *Plant Communications*, 2022, 3(2): 100169.
- [64] BINDICS J, KHAN M, UHSE S, et al. Many ways to TOPLESS—manipulation of plant auxin signalling by a cluster of fungal effectors[J]. *New Phytologist*, 2022, 236(4): 1455–1470.
- [65] MAMOONA K, SIMON U, JANOS B, et al. Tip of the iceberg? Three novel TOPLESS interacting effectors of the gall-inducing fungus *Ustilago maydis*[J]. *BioRxiv*(Cold Spring Harbor Laboratory), 2023:2023.06.12.544640.
- [66] HUANG L, ÖKMEN B, STOLZE S C, et al. The fungal pathogen *Ustilago maydis* targets the maize corepressor RELK2 to modulate host transcription for tumorigenesis[J]. *New Phytologist*, 2023, 214(4): 1747–1762.
- [67] LOAKE G, GRANT M. Salicylic acid in plant defence—the players and protagonists[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, 10(5): 466–472.
- [68] DJAMEI A, SCHIPPER K, RABE F, et al. Metabolic priming by a secreted fungal effector[J]. *Nature*, 2011, 478(7369): 395–398.
- [69] RABE F, AJAMI-RASHIDI Z, DOEHLEMAN G, et al. Degradation of the plant defence hormone salicylic acid by the biotrophic fungus *Ustilago maydis*[J]. *Molecular Microbiology*, 2013, 89(1): 179–188.
- [70] MUELLER A N, ZIEMANN S, TREITSCHKE S, et al. Compatibility in the *Ustilago maydis*-Maize Interaction Requires Inhibition of Host Cysteine Proteases by the Fungal Effector Pit2[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(2): e1003177.
- [71] MISAS VILLAMIL J C, MUELLER A N, DEMIR F, et al. A fungal substrate mimicking molecule suppresses plant immunity via an inter-kingdom conserved motif[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1576.
- [72] DARINO M, CHIA K S, MARQUES J, et al. *Ustilago maydis* effector Jsi1 interacts with Topless corepressor, hijacking plant jasmonate/ethylene signaling[J]. *New Phytologist*, 2021, 229(6): 3393–3407.
- [73] REDKAR A, HOSER R, SCHILLING L, et al. A secreted effector protein of *Ustilago maydis* guides maize leaf cells to form tumors[J]. *Plant Cell*, 2015, 27(4): 1332–1351.
- [74] ZUO W, DEPOTTER J R L, STOLZE S C, et al. A transcriptional activator effector of *Ustilago maydis* regulates hyperplasia in maize during pathogen-induced tumor formation[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 6722.
- [75] SCHUSTER M, SCHWEIZER G, REISSMANN S, et al. Genome editing in *Ustilago maydis* using the CRISPR-Cas system[J]. *Fungal Genetics Biology*, 2016, 89: 3–9.
- [76] ZUO W, DEPOTTER J R, GUPTA D K, et al. Cross-species analysis between the maize smut fungi *Ustilago maydis* and *Sporisorium reilianum* highlights the role of transcriptional change of effector orthologs for virulence and disease[J]. *New Phytologist*, 2021, 232(2): 719–733.

(责任编辑:姜媛媛)