

· 植物免疫与抗病性 ·

稻瘟病菌与水稻互作早期侵染机制研究进展

刘昕宇 刘木星 尹梓屹 张海峰 张正光*

南京农业大学 植物保护学院, 南京 210095

[摘要] 水稻是世界上重要的粮食作物之一,是全球 30 亿以上人口的主粮。由于各种病虫害的危害,全球水稻生产和粮食安全受到严重威胁,其中由稻瘟病菌引起的稻瘟病是对水稻最具毁灭性的病害。抗病品种的种植与化学农药的使用能有效地控制稻瘟病的发生。但是,田间稻瘟病菌菌株适应性强、变异快,导致抗病品种连续种植后易失去抗性;同时,病菌抗药性的产生致使化学农药的控制效果降低。因此,从分子水平揭示病菌的致病机制及其与水稻的互作机制可望为研发高效低毒农药提供候选靶标,同时为抗病育种提供新的策略。本文总结了稻瘟病菌在侵染水稻过程中识别并内化水稻表面信号,通过胞内级联途径传递信号,进而分化产生侵染必需的附着胞的机制,同时介绍了该病菌分泌效应分子抑制水稻细胞的防卫反应,促进病菌侵染等方面的研究进展,并对未来有待进一步深入研究的方向进行了思考与展望。

[关键词] 稻瘟病菌;附着胞;效应分子;致病机制;田间变异

稻瘟病菌 (*Magnaportheorizae*) 引起的稻瘟病是水稻上最重要的毁灭性真菌病害,每年给我国造成 30 亿公斤粮食损失,每年给全球造成的稻谷产量损失可养活 6 000 万人口。由于具有巨大的经济重要性和成熟的遗传操作体系,该病菌已成为植物病原真菌研究中的模式生物,引领着其他植物病原真菌的研究。21 世纪初,随着稻瘟病菌与水稻全基因组序列的公布,国内外学者从分子生物学水平对稻瘟病菌的附着胞形成机制、效应分子的鉴定与功能解析以及病菌与水稻的互作机制等方面开展了大量的研究,取得了一系列重要进展,为高效低毒的新型杀菌剂靶标的挖掘及水稻抗病育种新策略的制定提供了重要的理论和实验依据。

1 稻瘟病菌识别水稻表面信号调控附着胞形成的分子机制

1.1 功能性附着胞的形成

稻瘟病菌是半活体营养型真菌,在生长发育和侵染水稻过程中需要应对和克服外界各种不良环境的变化和影响。病菌侵染水稻初期处于活体营养阶段,通过抑制寄主的免疫反应,实现在寄主细胞内的



张正光 南京农业大学植物保护学院教授,教育部长江学者特聘教授,国家杰出青年科学基金获得者。主要从事稻瘟病成灾机制与控制研究;转基因作物环境安全评价等研究。先后承担国家自然科学基金重点项目、国家自然科学基金中德合作项目、国家自然科学基金面上项目及农业农村部转基因重大专项等多个课题,迄今已在国内外期刊发表学术论文逾百篇。



刘昕宇 南京农业大学植物保护学院博士后,主要从事稻瘟病菌致病机制研究。现主要承担国家自然科学基金面上项目、江苏省自然科学基金青年基金及中国博士后科学基金面上项目等课题。近 5 年以第一作者发表论文 4 篇。

成功定殖;随后进入死体营养阶段,促进寄主细胞坏死^[1]。当稻瘟病菌的分生孢子接触叶片表皮时,孢子的顶端细胞释放出粘性物质,使孢子与叶片紧密贴合^[2]。在 90% 以上的湿度条件下,孢子萌发成极性生长的芽管,沿着叶片表面生长。当芽管感知到叶片表面硬度和疏水性等物理信号后,芽管顶端分化形成一个膨大的侵染结构——附着胞

(Appressorium)^[3-5]。随着附着胞的成熟,在其细胞壁内侧形成黑色素层,防止甘油及大分子物质外流。同时,孢子内的营养物质被转移到附着胞内,进一步促进附着胞的发育和成熟。

附着胞内积累大量甘油后,可产生高达 8.0 MPa 的膨压,进而形成强大的机械压力。与寄主表面的接触的附着胞基部有直径为 5~10 μm 、不含有黑色素层的附着胞孔,在巨大膨压下该部位分化出可以穿透水稻表皮角质层的侵入钉(Penetration Peg)^[6,7]。在附着胞的成熟过程中,胞内积累高浓度的活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)来强化附着胞的细胞壁^[8]。稻瘟病菌中的 ROS 积累由两个 NADPH 氧化酶 Nox1 和 Nox2 直接调控,缺失其中任意一个均会导致附着胞穿透寄主表皮的能力下降。当附着胞发育成熟时,其内部的肌动蛋白会通过 Septin GTP 酶为支架实现重塑,在附着胞基部围绕附着胞孔形成一个环状的 F-actin(肌动蛋白)网络,调控质膜的曲张,使附着胞内均向的膨压转化为侵入钉穿透水稻表皮的定向机械压力,促进侵入钉形成并穿透寄主表皮^[9]。同时,当附着胞内的膨压达到临界阈值时,细胞膜上感受器激酶 Sln1 负调控黑色素的合成和附着胞内甘油的形成,使附着胞内的膨压停止增大,Sln1 通过依赖 Pkc1 的细胞完整性途径激活 NADPH 氧化酶,并招募 Septins 到附着胞孔,进一步加速附着胞底部的 F-actin 网络的重塑^[10]。缺失 Sln1 导致附着胞内膨压异常增大,附着胞穿透寄主表皮能力显著下降^[10,11]。

F-actin 网络的重塑依赖于多个组分参与。F-actin 加帽蛋白 MoCapA/B 异二聚体直接参与附着胞底部 F-actin 网络的动态组装,胞吞蛋白 MoEnd3 能够与 F-actin 结合,调控 F-actin 网络的组装,MoCapA/B 异二聚体任何一个亚基与 MoEnd3 的缺失会导致 F-actin 组装异常,附着胞膨压减低,导致穿透能力降低,且肌动蛋白调控激酶 MoArk1 通过磷酸化 MoCapA/B 二聚体和胞吞蛋白 MoEnd3,调控其与 F-actin 的结合,进而控制 F-actin 网络的组装^[12,13]。F-actin 结合蛋白 MoAbp1 作为接头蛋白招募蛋白激酶 MoArk1 和腺苷酸环化酶相关蛋白 Cap1 到细胞骨架组装位置,调控附着胞发育成熟过程中的 F-actin 网络的组装^[14]。上述 F-actin 网络的准确组装是维持附着胞膨压和穿透力的必需前提。

1.2 寄主表面信号的转换为胞内信号及胞内信号传导

1.2.1 寄主表面信号的识别

稻瘟病菌附着胞形成过程中,其分生孢子萌发形成的芽管识别寄主表面理化信号、并将该信号转换为胞内信号主要依靠保守的异三聚体 G 蛋白(简称 G 蛋白)/环腺苷酸(Cyclic AMP, cAMP)信号途径和 Pmk1 介导的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号途径完成^[1,15]。芽管顶端分化时,细胞膜上跨膜的非典型 G 蛋白偶联受体(G-Protein-Coupled Receptor, GPCR)Pth11 感知表面疏水信号,并与 G 蛋白结合,作用于 cAMP 信号途径上游,激活 cAMP 信号途径^[16]。Pth11 蛋白具有 1 个 7 次跨膜结构和 1 个 CFEM(Common in Several Fungal Extracellular Membrane Protein)功能域^[17, 18],其中 CFEM 功能域是该病菌附着胞形成和致病力的必需条件,学界普遍认为 Pth11 很可能通过 CFEM 功能域实现对表面信号的感知^[19]。

稻瘟病菌 G 蛋白是由 $G\alpha$ 亚基与 $G\beta\gamma$ 异源二聚体组成的异源三聚体,胞内含有 3 个 $G\alpha$ 亚基(MagA、MagB 和 MagC)、1 个 $G\beta$ 亚基(Mgb)和 1 个 $G\gamma$ 亚基^[20,21]。病菌细胞膜上的跨膜蛋白如 Pth11 识别寄主表面信号后,将寄主表面信号传递给 G 蛋白,激活 G 蛋白信号途径,G 蛋白三聚体解离成 α 亚基、 $\beta\gamma$ 亚基二聚体, $G\alpha$ 亚基结合的 GDP 转变为 GTP,即由非活化态的 $G\alpha$ -GDP 转变为活化态的 $G\alpha$ -GTP,引起 G 蛋白的构象转变,促使 $G\alpha$ 与 $G\beta\gamma$ 异二聚体解离。 $G\alpha$ 和 $G\beta\gamma$ 分别作为有活性的信号分子激活下游的 cAMP-PKA、MAPK 等信号传导途径,最终将寄主表面信号转换为胞内信号,调控附着胞的形成^[22, 23]。

cAMP-PKA 信号途径调控稻瘟病菌识别寄主表面信号,控制病菌附着胞的形成与致病力。活化态的 $G\alpha$ -GTP 激活 cAMP 途径,即 $G\alpha$ 亚基激活腺苷酸环化酶 Mac1,后者催化 ATP 转化成 cAMP,导致胞内的 cAMP 浓度升高,cAMP 作为第二信使激活 PKA(依赖于 cAMP 的蛋白激酶 A)及下游的效应分子,控制病菌对寄主的识别,调控附着胞的形成和对水稻的致病性^[24-26]。 $G\alpha$ 亚基 MagB、 $G\beta$ 和 $G\gamma$ 和腺苷酸环化酶 Mac1 的缺失导致该病菌无法识别寄主表面信号,不能形成附着胞,丧失致病力^[20,25]。缺失与 MagB 相互作用的调控因子 Ric8,病菌无法识别寄主表面信号,不能形成附着胞,致病力丧失^[27]。而外源的 cAMP 可部分或全部恢复 Mac1、

MagB、Ric8、G β 和 G γ 等编码基因缺失突变体的附着胞形成。

胞内合成的 cAMP 激活下游的 PKA (依赖 cAMP 的蛋白激酶 A), 控制附着胞的形成^[24, 28]。该蛋白由 2 个调节亚基和 2 个催化亚基形成异聚体, 转录因子 MoSom1 和 MoCdtf1 作用于 PKA 的下游调控附着胞的形成^[29]。

活化态 G α 亚基在自身的 GTP 酶作用下将 GTP 水解为 GDP, 即 G α -GTP 转变为 G α -GDP, 然后与 G $\beta\gamma$ 二聚体重新聚合成异三聚体, 完成信号转换。在此过程中, G 蛋白信号调控因子 Rgs 蛋白 (Regulator of G-protein Signaling Protein) 作为 GTP 酶激活蛋白, 加速 G α 亚基对 GTP 的水解, 使 G 蛋白失活, 从而迅速关闭 G 蛋白信号途径。稻瘟病菌编码 8 个 Rgs 蛋白 (MoRgs1-8), 其中 MoRgs5-8 是真菌中新报道的 Rgs 蛋白。这些 Rgs 蛋白除了包含一个 120 个氨基酸的 RGS 结构域外, 还含有其他的结构域, 其中 MoRgs7 和 MoRgs8 的 N 端含有类似 GPCR 受体蛋白的 7 次跨膜结构域^[30], 这与拟兰芥的 G 蛋白调控因子 AtRgs1 具有相似的结构^[31]。MoRgs1、MoRgs2、MoRgs3、MoRgs4、MoRgs6 和 MoRgs7 参与寄主表面识别, 调控分生孢子萌发后芽管生长和附着胞的分化, 这些蛋白的缺失导致芽管顶端产生 2 个附着胞^[30], 且这 6 个 Rgs 蛋白受 bZIP 转录因子 MoBzip5 正调控^[32]。其中 MoRgs1 负调控 G α 亚基 MagA, 控制胞内 cAMP 浓度, 参与表面识别, 其编码基因缺失后, 突变体可在非诱导型的亲水界面上形成附着胞^[33]。可见, Rgs 蛋白既可以通过行使 GTP 酶激活蛋白功能调节胞内 cAMP 水平, 也能通过 cAMP 信号途径调控该病菌识别寄主信号及生长发育, 还可以通过与 cAMP 不相关的途径来调控稻瘟病菌附着胞分化及对水稻的致病力。

1.2.2 表面信号内化后在胞内传导

稻瘟病菌胞内的内含体组分可以锚定 G 蛋白/cAMP 信号途径中的蛋白组分, 作为信号传导的中间蛋白发挥功能^[18]。在表面信号转换与传递过程中, Pth11、MagA、Mac1 以及 Rgs1 等蛋白均定位于动态的微管状囊泡中 (Tubulo-Vesicular Endosomal), 这些蛋白的锚定需要早期内含体向晚期内含体转变过程中的关键蛋白 Vps39 参与, Vps39 突变导致上述蛋白不能正常点位, 导致信号传递受阻, 不能形成附着胞^[18]。

稻瘟病菌的 Pmk1 MAPK 途径在附着胞的形

成、穿透及侵染过程中发挥着重要的调控作用。作为 MAPK 级联元件中最下游的蛋白激酶, Pmk1 被认为是稻瘟病菌中调控附着胞形成的关键蛋白。同时, Pmk1 上游的两个激酶 Mst7 (MAPKK) 和 Mst11 (MAPKKK) 以及支架蛋白 Mst50 都已被鉴定^[22, 34, 35]。Mst7 和 Mst11 均通过与 Mst50 互作激活 Pmk1 MAPK 通路, 控制附着胞的形成和致病过程^[34-36]。同时, 研究者还发现 Mst7 与硫氧还蛋白 Trx2 相互作用, 通过调控 Pmk1 的磷酸化影响附着胞的形成^[37]。

激活 Pmk1 途径的上游信号通路也得到了深入解析。稻瘟病菌细胞膜表面受体蛋白 Pth11 和 MoSho1 识别寄主表面信号后, 肌动蛋白调控激酶 MoArk1 磷酸化胞吞蛋白 MoEnd3, 促进 Pth11 和 MoSho1 与内吞到胞内, 将信号传递给下游的 Pmk1 激酶途径, 从而控制附着胞的形成^[12]。最近也发现含有 7 次跨膜的 Rgs 蛋白 MoRgs7 可与疏水界面结合, 识别疏水信号, 然后经 coronin 蛋白介导的内吞, 将寄主信号转换为胞内信号, 激活 Mac, 促进 cAMP 合成, 调控附着胞的形成 (图 1)^[38]。

细胞表面的受体蛋白 Msb2 和 Cbp1 通过与 GTP 结合蛋白 Ras2 互作激活 Pmk1 MAPK 信号通路^[39]。前期研究表明, Ras GTP 结合蛋白 Ras1 和 Ras2 通过与 Mst11 和 Mst50 互作激活 Pmk1^[35]。Ras2 参与病菌附着胞的形态建成, 而 Ras1 没有明显功能^[36]。有趣的是, 在稻瘟病菌中组成型激活 Ras2, 会导致 Pmk1 MAPK 和 cAMP 信号途径被异常激活, 激活菌株在非诱导界面形成附着胞^[36]。可见, 持续激活 Ras2 可使病原菌在附着胞发育早期绕过所必需感知的理化信号。此外, Mst11 与活化态 Ras2 之间的互作以及磷酸化级联反应, 使其自身的抑制状态得到解除, 从而启动 Pmk1 途径^[40]。

除了 cAMP/PKA 和 Pmk1 MAPK 途径均可调控病菌附着胞的发育和成熟之外, TOR (Target of Rapamycin) 信号通路可被胞内谷氨酰胺激活, 抑制病菌附着胞的发育^[41]。GATA 转录因子 Asd4 通过调控胞内谷氨酰胺的含量控制附着胞的形成, 其缺失突变体的胞内谷氨酰胺含量与野生型相比显著升高, TOR 通路被激活, 导致其在诱导界面上不能形成附着胞。外源添加雷帕霉素可抑制 Asd4 和 cpkA 突变体的附着胞形成缺陷, 但对 Pmk1 突变体没有作用^[41]。此外稻瘟病菌还存在两条保守的 MAPK 途径: 细胞壁完整性 (Cell Wall Integrity, CWI) 信号途径和渗透压调节 (High Osmotic Glycerol, HOGK)

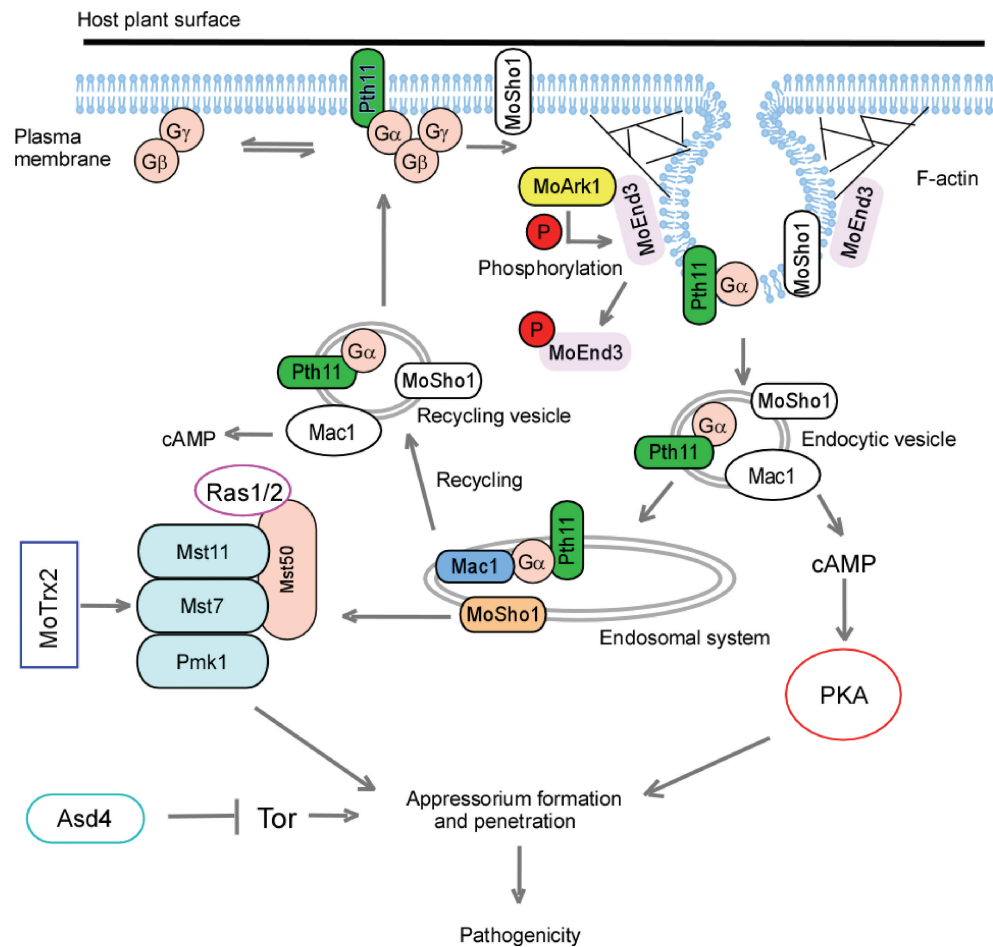


图1 稻瘟病菌识别表面信号及胞内信号传导

(当分生孢子在寄主表面萌发时,病菌表面受体内化信号,导致 cAMP 积累,从而激活 PKA 活性,促进附着胞形成。此过程中磷酸激酶 MoArk1 磷酸化 MoEnd3,控制膜受体 Pth11 和 MoSho1 胞内吞。RasGTP 结合蛋白 Ras1/2 通过与 Mst11 和 Mst50 互作激活 Pmk1,调控附着胞形成。转录因子 Asd4 调控胞内谷氨酰胺的平衡,进而负调控 Tor,控制附着胞的形成。改编自^[12]。)

信号途径。CWI 途径上游未知的膜受体蛋白感知外界细胞壁胁迫信号后,通过鸟苷酸交换因子 Rom2、GTP 酶 Rho1 以及蛋白激酶 C (Pkc1) 激活 Mck1-Mkk1-Mps1 MAPK 级联途径,将胞外细胞壁胁迫信号整合到胞内,最终激活下游的转录因子^[42]。缺失级联反应中的 Mck1-Mkk1-Mps1 任意一个组分均导致病菌对细胞壁胁迫剂敏感性增强,且附着胞对寄主表皮穿透能力丧失^[43, 44]。此外, Mkk1 还可介导细胞壁完整性途径与渗透压胁迫途径、未折叠蛋白反应途径、细胞自噬过程的交叉对话^[45, 46]。Mps1 可激活下游与致病相关的转录因子 Mig1 和 MoSwi6^[47, 48]。HOG 途径中关键的蛋白激酶 Osm1 参与病菌对高渗透胁迫的应答,不影响附着胞形成和致病力^[49],但是,该途径上游的 Sln1 等蛋白却参与胁迫应答和致病过程,暗示这些蛋白的下游可能存在除 Osm1 以外的其他靶蛋白^[11, 50]。

最近发现组蛋白乙酰转移酶参与稻瘟病菌功能性附着胞的分化。该病菌营养生长时,被葡萄糖糖激酶 MoGsk1 磷酸化的组蛋白乙酰转移酶 MoHat1 定位于细胞核中,而当病菌接触、识别水稻表面后,MoHat1 一部分继续留在细胞核中,另一部分则迅速去磷酸化,与热激蛋白 MoSsb1 结合,并在其帮助下进入细胞质中,对细胞自噬中的核心蛋白 MoAtg3 和 MoAtg9 进行乙酰化,实现对细胞自噬的精准调控,进而控制糖原/脂质的降解,调控稻瘟病菌功能性附着胞的形成,助力病菌完成侵染^[46]。

1.3 附着胞形成过程中的细胞周期调控

稻瘟病菌除了通过 cAMP 和 MAPK 途径响应外界的理化信号外,还可以利用其他的胞内途径确保功能性附着胞的形成。病菌的分生孢子在萌发形成附着胞的过程中需经历连续的细胞周期循环和细

胞自噬过程^[51, 52]。该病菌的分生孢子由三个细胞组成,每个细胞含有一个细胞核。在附着胞分化形成过程中,其中一个细胞核转移至正在发育的附着胞中,并完成一次有丝分裂,产生两个子细胞核,其中一个转移到正在发育的附着胞中,另一个则回到孢子内。当子细胞核转移至附着胞内时,芽管和附着胞中间即会形成一层隔膜。该子细胞核就是病菌侵染寄主植物时的全部遗传信息来源。初始附着胞的形成由芽管中有丝分裂控制,其中的 S 期 DNA 的复制是芽管顶端膨大所必需的^[52]。外源添加羟基脲(Hydroxyurea, HU)或利用 *nim1* 温度敏感型突变体抑制 DNA 的复制,均可阻止芽管分化成附着胞^[52]。最近发现,稻瘟病菌具有两套独立的 S 期控制系统来确保附着胞初始形态建成^[53]。第一个 S 期控制点由蛋白激酶 Cds1 介导的 DNA 损伤应答(DNA Damage-Response, DDR)途径控制。HU 处理 Cds1 突变体导致孢子的细胞凋亡受阻,形成一个未黑色素化的附着胞。第二个 S 期控制点在附着胞中,对于侵入钉的形成和侵染是十分重要的。这个控制点独立于 DDR 通路之外,由膨压感知所控制,与黑色素的合成相关。在 S 期之后, G2 期和 M 期的控制点对附着胞的成熟和侵染过程至关重要^[52]。事实上, TOR 途径的失活对将细胞有丝分裂阻断在 G2 期与细胞自噬的起始点以及附着胞的发育都是必需的,而细胞自噬过程释放出的氮素营养又会重新激活 TOR 途径,进一步激活有丝分裂及细胞周期过程。随后,由于 TOR 途径的再次失活,附着胞内的细胞核会被抑制在 G1 期^[54]。附着胞形成后,分生孢子中的三个细胞核会经细胞自噬而降解^[51],孢子中的物质被转移到附着胞中循环利用^[55]。研究发现,控制极性生长的转录因子 Tpc1,在稻瘟病菌营养生长和附着胞介导的侵染过程中具有重要的调控作用^[56]。Tpc1 的功能与 Pmk1 信号通路以及 Atg1 激酶途径相关。Tpc1 通过调控与细胞自噬、糖原/脂质的降解以及 septin 介导的 F-actin 细胞骨架的不对称重组等多个生化过程相关基因的转录,促进对寄主细胞的侵染^[56]。

2 稻瘟病菌侵染过程中干扰水稻免疫的分子机制

稻瘟病菌附着胞成熟后,产生的侵入钉穿透寄主表皮,随后分化成为细丝状的初生侵染菌丝(IH),并在活体水稻细胞内生长。在该时期,稻瘟病菌从水稻细胞获取营养,其细长的侵染菌丝分化

成膨大的酵母状侵染菌丝,并被植物的细胞膜包裹,从而在水稻细胞膜与病菌侵染菌丝之间形成封闭的质外体空间—EIHM (Extra-Invasive Hyphal Membrane)^[65]。酵母状侵染菌丝在第一个细胞迅速生长,并转换为次生侵染菌丝,在蛋白激酶 Pmk1 的调控下经水稻细胞之间的胞间连丝扩展至未感染的相邻细胞^[53]。

在长期协同进化的过程中,水稻逐步进化出多重防御措施以抵御稻瘟病菌的侵染,包括:病原相关模式分子(Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs)诱导的免疫反应(PAMP-Triggered Immunity, PTI)和病原菌效应分子(Effector)诱导的免疫反应(Effector-Triggered Immunity, ETI)。其中 PTI 是由植物细胞表面的模式识别受体(Pattern-Recognition Receptors, PRRs)识别病原菌分泌的 PAMPs 而激发的非特异性免疫反应。为了成功侵染寄主植物,病原菌分泌效应分子干扰这种 PTI 反应,诱导植物感病(Effector-Triggered Susceptibility, ETS)。针对效应分子植物进化出与之对应的抗病蛋白,通过直接或间接识别效应分子,触发第二种防御反应—ETI。

2.1 PAMP 介导的水稻 PTI 免疫

近年来普遍认为,植物受病原菌攻击时,植物细胞膜上受体识别病菌的 PAMPs 触发基础抗病性 PTI,伴随有活性氧(ROS)迸发、胼胝质积累、MAPK 信号途径激活以及防卫相关蛋白表达等植物防御措施来抵御病菌的侵染^[57-59]。几丁质激发子结合蛋白(Chitin Elicitor Binding Protein, CEBiP)介导的水稻对稻瘟病菌的基础防卫反应是稻瘟病菌与水稻互作系统中研究最清楚的 PTI 过程。真菌细胞壁的重要组分几丁质在植物和动物中激发多种防卫反应,包括 ROS 的产生、病程相关基因的表达、植保素的合成等。水稻细胞膜受体蛋白 CEBiP 在识别病原菌释放的几丁质寡糖过程中具有重要作用。沉默 CEBiP 编码基因会抑制互作阶段 ROS 的产生及病程相关基因的表达,表明 CEBiP 是水稻细胞中感应及传导几丁质寡糖激发子信号的关键因子^[60]。

为了抑制寄主植物的 PTI,稻瘟病菌分泌大量的效应分子来干扰寄主的防卫反应^[61, 62]。因此,鉴定病原菌的效应分子及其在寄主植物中的作用靶标,进而解析两者的互作机理,不仅有助于认识病原菌的致病机理,而且能够为选育抗病品种提供新的思路。

2.2 稻瘟病菌效应分子的合成

效应分子多数为小分子的外泌蛋白,通过诱导改变寄主细胞结构或功能,干扰寄主免疫,从而促进病原菌的侵入。近年来,随着基因组测序以及基因克隆技术的发展,越来越多的稻瘟病菌效应分子被鉴定。稻瘟病菌含有超过1500个外泌蛋白,包括几丁质酶、葡聚糖酶在内的一系列细胞壁降解酶等^[26, 63]。在病原菌与水稻互作早期,病菌通过感知水稻PTI诱导产生的活性氧,病菌细胞质中的磷酸酶Yvh1在分子伴侣Ssb1和Ssz1的帮助下进入细胞核,并在细胞核内聚集。在细胞核内,Yvh1通过与核糖体反转蛋白Mrt4竞争性结合核糖体前体上的结合位点,加速核糖体的成熟,促进病菌合成更多(新)的外泌蛋白应答外界活性氧胁迫,从而完成其致病过程^[64]。

2.3 稻瘟病菌效应分子的分泌

根据分泌途径的差异,稻瘟病菌的效应分子分为两类:一类是经BIC(Biotrophic Interfacial Complex)特殊结构分泌、进入水稻细胞内细胞质空间的效应分子;另一类是经侵染菌丝细胞壁与寄主包膜之间的EIHM(Extra-Invasive-Hyphal Membrane)结构分泌的、滞留在寄主细胞外质外体空间的效应分子^[65, 66]。其中BIC结构是由稻瘟病菌诱导水稻产生的多层细胞膜结构,与初生侵染菌丝相连^[65]。随着稻瘟病菌侵染菌丝的扩展,邻近水稻细胞中侵染菌丝的顶端也会形成BIC结构。胞质效应分子,如无毒蛋白Avr-Pizt和AvrPi-ta,在BIC结构中积累到一定程度后,经由EIHM膜进入植物细胞,这一过程受到囊泡运输系统t-SNARE蛋白以及exocyst复合体组分的调控^[67]。胞质效应分子在侵染菌丝破坏植物细胞膜之前便分泌到植物细胞中,去靶标到寄主蛋白上抑制寄主免疫反应。与胞质效应分子不同,Bas4和Slp1等质外体效应分子并不进入寄主细胞内,而是分散在由EIHM膜和植物细胞膜间的细胞间隙中发挥作用^[67]。EIHM膜也是一种植物细胞的膜结构,在稻瘟病菌与水稻互作早期,EIHM膜结构包裹着酵母状侵染菌丝,在此期间质外体效应分子经过内质网—高尔基体这一分泌途径进入胞外间隙^[68]。

胞质效应蛋白是否受SNARE调控的分泌具有多样性。SNARE蛋白MoSec22和MoVam7调控囊泡运输,控制内吞(Endocytosis)和分泌平衡,从而影响病菌的生长发育和致病力^[69, 70]。MoSec22和MoVam7控制胞吞相关蛋白的SNARE蛋白

MoEnd3的定位,而End3调控无毒效应分子Avr-Pia和Avr-Piz-t的分泌,但是不参与调控无毒胞质效应蛋白Avr-Pib和Avr-Pi9的分泌^[12]。QC-SNARE蛋白MoSyn8也调控无毒效应分子Avr-Pia和AvrPiz-t的分泌,敲除MoSYN8基因后Avr-Pia和AvrPiz-t在突变体中无法通过BIC结构分泌到寄主细胞中,从而改变了病原菌无毒效应分子与寄主抗病蛋白的对应关系,导致原本在含有Pia和Piz-t的水稻品种上表现为抗病的JS153菌株转变为感病^[71]。可见,稻瘟病菌不同胞质效应分子在外泌时受到不同的胞内途径调控,因此,阐明效应分子的胞内转运机制以及转运途径控制的效应分子的种类及效应分子的毒性功能,对解析稻瘟病菌的致病机制具有重要意义。

2.4 稻瘟病菌效应分子的功能

稻瘟病菌效应分子Slp1、MoAa91与水稻细胞膜表面的受体蛋白CEBiP竞争性结合病菌细胞壁的几丁质寡糖激发子,抑制CEBiP识别几丁质寡糖,从而抑制几丁质寡糖诱导的水稻免疫反应^[60]。最近发现稻瘟病菌的几丁质酶Chia具有效应分子的功能,通过与几丁质竞争性地结合水稻膜受体,干扰几丁质诱发的免疫反应^[72]。前期在稻瘟病菌田间菌株98-06中鉴定到两个菌株特异性效应分子Iug6和Iug9,发现两者可抑制防卫反应基因的表达,干扰寄主的免疫反应。缺失这两个效应分子编码基因的突变体无法抑制侵染位点活性氧的积累^[63]。胞质效应分子Avr-pizt在稻瘟病菌侵染水稻时发挥有毒效应分子的功能,抑制寄主免疫。Avr-pizt诱导E3泛素连接酶APIP6和APIP10的泛素化降解阻断信号传导,抑制水稻免疫反应^[73, 74]。同时,Avr-pizt在细胞质中结合并降解APIP5,抑制APIP5介导的水稻细胞自发性坏死,促进病菌侵染。此外,Avr-pizt还可与水稻核孔蛋白APIP12互作,抑制其功能和防卫相关基因的表达,从而降低水稻对稻瘟病菌的抗性^[75]。胞质效应分子Avr-Pii通过专一性的抑制苹果酸酶(OsNADP-ME2-3)的活性,阻止水稻细胞中活性氧的迸发,从而抑制水稻免疫反应(表1)^[76]。

2.5 稻瘟病菌效应分子诱导的ETI反应

为了进一步应对稻瘟病菌效应分子的攻击,水稻进化了更特异性的免疫机制直接或间接识别稻瘟病菌的效应分子蛋白,激活更为强烈的抗病反应(ETI),通常伴随着活性氧迸发、一氧化氮的生成及病菌侵入位点的细胞程序性死亡等。ETI反应模式

表 1 稻瘟病菌已知效应分子鉴定

效应分子	基因编号	功能	参考文献
AVR-Pita	AF207841	锌蛋白酶	[78]
AVR-Piz-t	HE578813	作用于水稻 U3 泛素连接酶,抑制 flg22 及几丁质诱导的活性氧迸发	[73]
AVR-CO39	AF463528	RGA4/ RGA 5 互作蛋白	[79]
AVR-Pii	AB498874	锌指结构蛋白	[80]
ACE1	AJ704622	聚酮合酶\肽合酶	[81]
AVR-Pia	AB498873	—*	[80]
AVR-Pik/km/kp	AB498875-AB498879	—	[80]
AvrPi9	MGG_12655	—	[82]
AVR-Pib	KM887844	—	[83]
AVR-Pi54	MGG_01947	—	[84]
PWL1	AB480169	BIC 定位效应子	[85]
PWL2	MGG_04301	BIC 定位效应子	[85]
SLP1	MGG_10097	结合几丁质寡糖,抑制几丁质诱导的水稻免疫	[60]
MoChia1	MGG_08054	几丁质酶	[72]
MC69	MGG_02848	—	[86]
MSP1	MGG_05344	触发自噬细胞死亡并诱发寄主防御反应	[87]
BAS1	MGG_04795	—	[66]
BAS2	MGG_09693	—	[66]
BAS3	MGG_11610	—	[66]
BAS4	MGG_10914	—	[66]
BAS107	MGG_10020	—	[88]
Iug6	Mo_GLEAN_10000617	抑制水杨酸及乙烯信号途径	[63]
Iug9	Mo_GLEAN_10000765	抑制水杨酸及乙烯信号途径	[63]
MoCDIPs	—	水稻原生质体中诱导植物细胞坏死	[89]
SDPs	—	抑制寄主防卫反应	[90]
MoHEGs	—	抑制寄主防卫反应	[91]

* “—”代表功能未知或没有明确互作蛋白。

符合“基因对基因”假说,当与含有相应抗病蛋白(R蛋白)的寄主发生反应时,由无毒基因(AVR)编码的效应分子才显示出无毒表型,即非亲和互作^[61]。效应分子诱导的免疫反应(ETI)主要由一类具有核苷酸结合位点和富含亮氨酸重复结构域(NBS-LRR)的受体蛋白所调控。这是在植物中发现的一类最大的抗病蛋白家族,在水稻中约有 600 个蛋白编码基因。迄今为止,在水稻中已经发现并鉴定到数十个抗病基因,在稻瘟病菌中鉴定到 11 个无毒基

因^[1]。抗病蛋白能够直接或间接地与效应蛋白互作产生抗病反应,其中 Pita/AvrPita、Pik/AvrPik、Pia/AvrPia 以及 Pi-CO39/Avr-CO-39 等基因组合通过直接相互作用诱发水稻产生抗性。抗病蛋白 Pita 编码一种含有核苷酸结合位点及 C 端富亮氨酸重复区域(LRD)的细胞质受体蛋白。在稻瘟病菌中克隆的无毒基因 AvrPita 编码依赖于锌的金属蛋白酶,通过其羧基端的亮氨酸富集区结合 Pi-ta,并在水稻中引起 Pita 抗性反应。与之相比,另一些抗病基因

组合如 Pii/AvrPii、Pizt/AvrPizt 则不直接互作^[77], 而需要借助其他中间蛋白完成识别。以 Pii/AvrPii 为例, AvrPii 与水稻胞吐复合体相关蛋白 OsExo70 以及苹果酸酶 (OsNADP-ME2-3) 均特异性互作, 在 Pii 品系水稻中沉默 OsEXO70 和 OsNADP-ME2-3 均会导致 Pii 丧失对 AVR-Pii 稻瘟病菌的抗性, 表明 OsExo70 和 OsNADP-ME2-3 均参与 Pii 与 AvrPii 介导的稻瘟病菌与水稻的互作过程。然而该蛋白与 Pii 的作用关系仍有待解析^[76]。克隆抗性基因和无毒基因, 协同研究无毒基因和抗性基因的功能有利于深入了解病原物与寄主的识别与互作机制。

3 展 望

近十多年来, 水稻—稻瘟病菌互作机制研究取得了飞速发展。在水稻—稻瘟病菌旷日持久的军备竞赛中, 病菌产生特殊侵染结构“附着胞”、分泌效应分子、进化特异性小种不断尝试突破水稻免疫系统^[92]。同时, 水稻通过进化出 PTI 基础免疫与 ETI 特异性免疫体系抵御稻瘟病菌的侵染。近十年来, 水稻抗病基因、稻瘟病菌无毒基因的鉴定与克隆为我们从分子水平解析稻瘟病菌与水稻的分子互作机制提供重要的理论依据, 未来我们将在以下几方面进行深入研究: (1) 鉴定细胞膜上识别水稻表面信号关键受体, 并解析其调控附着胞形成的信号途径; (2) 结合功能基因组学、结构生物学和农药学三个交叉学科, 聚焦附着胞形成信号传导途径及效应分子分泌途径的关键蛋白, 从中挖掘潜在的杀菌剂靶标, 研发新农药; (3) 基于核心效应子及其靶标的改造筛选广谱抗病基因; (4) 从转座子、表观修饰等方面揭示稻瘟病菌的田间变异机制, 为病菌的变异治理提供新策略。

参 考 文 献

- [1] Zhang H, Zheng X, Zhang Z. The *Magnaporthe grisea* species complex and plant pathogenesis. *Molecular Plant Pathology*, 2016, 17(6): 796—804.
- [2] Hamer JE, Howard RJ, Chumley FG, et al. A mechanism for surface attachment in spores of a plant pathogenic fungus. *Science*, 1988, 239(4837): 288—290.
- [3] Jelitto TC, Page HA, Read ND. Role of external signals in regulating the pre-penetration phase of infection by the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Planta*, 1994, 194: 471—477.
- [4] Wilson RA, Talbot NJ. Under pressure: investigating the biology of plant infection by *Magnaporthe oryzae*. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(3): 185—195.
- [5] Ryder LS, Talbot NJ. Regulation of appressorium development in pathogenic fungi. *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, 26: 8—13.
- [6] Chumley FG, Valent B. Genetic-Analysis of Melanin-Deficient, Nonpathogenic mutants of *Magnaporthe grisea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1990, 3: 135—143.
- [7] deJong JC, McCormack BJ, Smirnov N, et al. Glycerol generates turgor in rice blast. *Nature*, 1997, 389: 244—245.
- [8] Egan MJ, Wang ZY, Jones MA, Smirnov N, Talbot, NJ. Generation of reactive oxygen species by fungal NADPH oxidases is required for rice blast disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(28): 11772—11777.
- [9] Dagdas YF, Yoshino K, Dagdas G, et al. Septin-mediated plant cell invasion by the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *Science*, 2012, 336(6088): 1590—1595.
- [10] Ryder LS, Dagdas YF, Kershaw MJ, et al. A sensor kinase controls turgor-driven plant infection by the rice blast fungus. *Nature*, 2019, 574: 423—427.
- [11] Zhang H, Liu K, Zhang X, et al. A two-component histidine kinase, MoSLN1, is required for cell wall integrity and pathogenicity of the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *Current Genetics*, 2010, 56(6): 517—528.
- [12] Li X, Gao C, Li L, et al. MoEnd3 regulates appressorium formation and virulence through mediating endocytosis in rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(6): e1006449.
- [13] Li L, Chen X, Zhang S, et al. MoCAP proteins regulated by MoArkl-mediated phosphorylation coordinate endocytosis and actin dynamics to govern development and virulence of *Magnaporthe oryzae*. *PloS Pathogens*, 2017, 13(5): e1006814.
- [14] Li L, Zhang S, Liu X, et al. *Magnaporthe oryzae* Abp1, a MoArkl kinase-interacting actin binding protein, links actin cytoskeleton regulation to growth, endocytosis, and pathogenesis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2019, 32(4): 437-451.
- [15] Xu JR, Hamer JE. MAP kinase and cAMP signaling regulate infection structure formation and pathogenic growth in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Genes Development*, 1996, 10(21): 2696—2706.

- [16] DeZwaan TM, Carroll AM, Valent B, et al. Magnaporthe grisea Pth11p is a novel plasma membrane protein that mediates appressorium differentiation in response to inductive substrate cues. *The Plant Cell*, 1999, 11(10): 2013—2030.
- [17] Kulkarni RD, Thon MR, Pan H, et al. Novel G-protein-coupled receptor-like proteins in the plant pathogenic fungus *Magnaporthe grisea*. *Genome Biology*, 2005, 6: R24.
- [18] Ramanujam R, Calvert ME, Selvaraj P, et al. The late endosomal HOPS complex anchors active G-protein signaling essential for pathogenesis in *Magnaporthe oryzae*. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(8): e1003527.
- [19] Kou YJ, Tan YH, Ramanujam R, et al. Structure-function analyses of the Pth11 receptor reveal an important role for CFEM motif and redox regulation in rice blast. *New Phytologist*, 2017, 214: 330—342.
- [20] Liu SH, Dean RA. G protein alpha subunit genes control growth, development, and pathogenicity of *Magnaporthe grisea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1997, 10(9): 1075—1086.
- [20] Nishimura M, Park G, Xu JR. The G-beta subunit MGB1 is involved in regulating multiple steps of infection-related morphogenesis in *Magnaporthe grisea*. *Molecular Microbiology*, 2003, 50(1): 231—243.
- [22] Li GT, Zhou XY, Xu JR. Genetic control of infection-related development in *Magnaporthe oryzae*. *Current Opinion Microbiology*, 2012, 15: 678—684.
- [23] Hamel LP, Nicole MC, Duplessis S, et al. Mitogen-activated protein kinase signaling in plant-interacting fungi: distinct messages from conserved messengers. *The Plant Cell*, 2012, 24: 1327—1351.
- [24] Mitchell TK, Dean RA. The cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit is required for appressorium formation and pathogenesis by the rice blast pathogen *Magnaporthe grisea*. *The Plant Cell*, 1995, 7: 1869—1878.
- [25] Choi W, Dean RA. The adenylate cyclase gene MAC1 of *Magnaporthe grisea* controls appressorium formation and other aspects of growth and development. *The Plant Cell*, 1997, 9(11): 1973—1983.
- [26] Dean RA, Talbot NJ, Ebbole DJ, et al. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Nature*, 2005, 434(7036): 980—986.
- [27] Li Y, Yan X, Wang H, et al. MoRic8 is a novel component of G-protein signaling during plant infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, 23(3): 317—331.
- [28] Xu JR, Urban M, Sweigard JA, et al. The CPKA gene of *Magnaporthe grisea* is essential for appressorial penetration. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1997, 10(2): 187—194.
- [29] Yan X, Li Y, Yue X, et al. Two novel transcriptional regulators are essential for infection-related morphogenesis and pathogenicity of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(12): e1002385.
- [30] Zhang HF, Tang W, Liu KY, et al. Eight RGS and RGS-like proteins orchestrate growth, differentiation, and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae*. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(12): e1002450.
- [31] Chen JG, Willard FS, Huang J, et al. A seven-transmembrane RGS protein that modulates plant cell proliferation. *Science*, 2003, 301: 1728—1731.
- [32] Tang W, Ru Y, Hong L, et al. System-wide characterization of bZIP transcription factor proteins involved in infection-related morphogenesis of *Magnaporthe oryzae*. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(4): 1377—1396.
- [33] Liu H, Suresh A, Willard FS, et al. Rgs1 regulates multiple Galpha subunits in *Magnaporthe* pathogenesis, asexual growth and thigmotropism. *The EMBO Journal*, 2007, 26(3): 690—700.
- [34] Zhao XH, Kim Y, Park G, et al. A mitogen-activated protein kinase cascade regulating infection-related morphogenesis in *Magnaporthe grisea*. *The Plant Cell*, 2005, 17: 1317—1329.
- [35] Park G, Xue C, Zhao X, et al. Multiple upstream signals converge on the adaptor protein Mst50 in *Magnaporthe grisea*. *The Plant Cell*, 2006, 18(10): 2822—2835.
- [36] Zhou XY, Zhao XH, Xue CY, et al. Bypassing both surface attachment and surface recognition requirements for appressorium formation by overactive ras signaling in *Magnaporthe oryzae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2014, 27(9): 996—1004.
- [37] Zhang S, Jiang C, Zhang Q, et al. Thioredoxins are involved in the activation of the PMK1 MAP kinase pathway during appressorium penetration and invasive growth in *Magnaporthe oryzae*. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(11): 3768—3784.
- [38] Li X, Zhong K, Yin Z, et al. The seven transmembrane domain protein MoRgs7 functions in surface perception and undergoes coronin MoCrn1-dependent endocytosis in complex with Galpha subunit MoMagA to promote cAMP signaling and appressorium formation in *Magnaporthe oryzae*. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(2): e1007382.

- [39] Wang GH, Li GT, Zhang SJ, et al. Activation of the signalling mucin MoMsb2 and its functional relationship with Cbp1 in *Magnaporthe oryzae*. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(8): 2969—2981.
- [40] Gong XY, Hurtado O, Wang BH, et al. pFPL vectors for high-throughput protein localization in fungi: detecting cytoplasmic accumulation of putative effector proteins. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2015, 28: 107—121.
- [41] Marroquin-Guzman M, Wilson RA. GATA-dependent glutaminolysis drives appressorium formation in *Magnaporthe oryzae* by suppressing TOR inhibition of camp/pka signaling. *Plos Pathogens*, 2015, 11(4): e1004851.
- [42] Jendretzki A, Wittland J, Wilk S, et al. How do I begin? Sensing extracellular stress to maintain yeast cell wall integrity. *European Journal of Cell Biology*, 2011, 90: 740—744.
- [43] Xu JR, Staiger CJ, Hamer JE. Inactivation of the mitogen-activated protein kinase Mps1 from the rice blast fungus prevents penetration of host cells but allows activation of plant defense responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(21): 12713—12718.
- [44] Jeon J, Goh J, Yoo S, et al. A putative MAP kinase kinase, MCK1, is required for cell wall integrity and pathogenicity of the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2008, 21(5): 525—534.
- [45] Yin Z, Feng W, Chen C, et al. Shedding light on autophagy coordinating with cell wall integrity signaling to govern pathogenicity of *Magnaporthe oryzae*. *Autophagy*, 2020, 16(5): 900—916.
- [46] Yin Z, Tang W, Wang J, et al. Phosphodiesterase MoPdeH targets MoMck1 of the conserved mitogen-activated protein (MAP) kinase signalling pathway to regulate cell wall integrity in rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 17(5): 654—668.
- [47] Mehrabi R, Ding S, Xu JR. MADS-box transcription factor Mig1 is required for infectious growth in *Magnaporthe grisea*. *Eukaryotic Cell*, 2008, 7(5): 791—799.
- [48] Qi Z, Wang Q, Dou X, 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*. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(7): 677—689.
- [49] Dixon KP, Xu JR, Smirnov N, et al. Independent signaling pathways regulate cellular turgor during hyperosmotic stress and appressorium-mediated plant infection by *Magnaporthe grisea*. *The Plant Cell*, 1999, 11(10): 2045—2058.
- [50] Motoyama T, Ochiai N, Morita M, et al. Involvement of putative response regulator genes of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* in osmotic stress response, fungicide action, and pathogenicity. *Current Genetics*, 2008, 54: 185—195.
- [51] Veneault-Fourrey C, Barooah M, Egan M, et al. Autophagic fungal cell death is necessary for infection by the rice blast fungus. *Science*, 2006, 312(5773): 580—583.
- [52] Saunders DGO, Aves SJ, Talbot NJ. Cell cycle-mediated regulation of plant infection by the rice blast fungus. *The Plant Cell*, 2010, 22(2): 497—507.
- [53] Osés-Ruiz M, Sakulkoo W, Littlejohn GR, et al. Two independent S-phase checkpoints regulate appressorium-mediated plant infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(2): E237—E244.
- [54] Marroquin-Guzman M, Sun GC, Wilson RA. Glucose-ABL1-TOR signaling modulates cell cycle tuning to control terminal appressorial cell differentiation. *PloS Genetics*, 2017, 13(1): e1006557.
- [55] He M, Kershaw MJ, Soanes DM, et al. Infection-associated nuclear degeneration in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* requires non-selective macro-autophagy. *PloS One*, 2012, 7(3): e33270.
- [56] Galhano R, Illana A, Ryder LS, et al. Tpc1 is an important Zn(II)(2)Cys(6) transcriptional regulator required for polarized growth and virulence in the rice blast fungus. *PloS Pathogens*, 2017, 13(7): e1006516.
- [57] Dodds PN, Rathjen JP. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics*, 2010, 11: 539—548.
- [58] 肖栓锁, 王钧. 水稻中超氧诱导与稻瘟菌抗性及苯丙氨酸解氨酶、几丁酶、 β -1,3-葡聚糖酶活性诱导的关系. *中国水稻科学*, 1997, 11(2): 93—102.
- [59] 李云锋, 王振中, 贾显禄. 稻瘟菌细胞壁激发子活性物质的提取与性质. *华中农业大学学报*, 2004, 23(3): 285—289.
- [60] Mentlak TA, Kombrink A, Shinya T, et al. Effector-mediated suppression of chitin-triggered immunity by *Magnaporthe oryzae* is necessary for rice blast disease. *The Plant Cell*, 2012, 24(1): 322—335.
- [61] Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444: 323—329.
- [62] Yan X, Talbot NJ. Investigating the cell biology of plant infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Current Opinion Microbiology*, 2016, 34: 147—153.

- [63] Dong Y, Li Y, Zhao M, et al. Global genome and transcriptome analyses of *Magnaporthe oryzae* epidemic isolate 98-06 uncover novel effectors and pathogenicity-related genes, revealing gene gain and lose dynamics in genome evolution. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(4): e1004801.
- [64] Liu X, Yang J, Qian B, et al. MoYvh1 subverts rice defense through functions of ribosomal protein MoMrt4 in *Magnaporthe oryzae*. *PLoS Pathogens*, 2018, 14(4): e1007016.
- [65] Valent B, Khang CH. Recent advances in rice blast effector research. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(4): 434—441.
- [66] Mosquera G, Giraldo MC, Khang CH, et al. Interaction transcriptome analysis identifies *Magnaporthe oryzae* BASI-4 as biotrophy-associated secreted proteins in rice blast disease. *The Plant Cell*, 2009, 21(4): 1273—1290.
- [67] Giraldo MC, Dagdas YF, Gupta YK, et al. Two distinct secretion systems facilitate tissue invasion by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Nature Communications*, 2013, 4: 1996.
- [68] Khang CH, Berruyer R, Giraldo MC, et al. Translocation of *Magnaporthe oryzae* effectors into rice cells and their subsequent cell-to-cell movement. *The Plant Cell*, 2010, 22(4): 1388—1403.
- [69] Song WW, Dou XY, Qi ZQ, et al. R-SNARE homolog MoSec22 is required for conidiogenesis, cell wall integrity, and pathogenesis of *Magnaporthe oryzae*. *PloS One*, 2010, 5(10): e13193.
- [70] Dou XY, Wang Q, Qi ZQ, et al. MoVam7, a conserved SNARE involved in vacuole assembly, is required for growth, endocytosis, ros accumulation, and pathogenesis of *Magnaporthe oryzae*. *PloS One*, 2012, 6(1): e16439.
- [71] Qi Z, Liu M, Dong Y, et al. The syntaxin protein (MoSyn8) mediates intracellular trafficking to regulate conidiogenesis and pathogenicity of rice blast fungus. *New Phytologist*, 2015, 209(4): 1655—1667.
- [72] Yang C, Yu Y, Huang J, et al. Binding of the *Magnaporthe oryzae* chitinase MoChial by a rice tetratricopeptide repeat protein allows free chitin to trigger immune responses. *The Plant Cell*, 2019, 31(1): 172—188.
- [73] Park CH, Chen S, Shirsekar G, et al. The *Magnaporthe oryzae* effector AvrPiz-t targets the RING E3 ubiquitin ligase APIP6 to suppress pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity in rice. *The Plant Cell*, 2012, 24: 4748—4762.
- [74] Park CH, Shirsekar G, Bellizzi M, et al. The E3 ligase APIP10 connects the effector AvrPiz-t to the NLR receptor Piz-t in rice. *PLoS Pathogens*, 2016, 12(3): e1005529.
- [75] Tang M, Ning Y, Shu X, et al. The Nup98 Homolog APIP12 Targeted by the effector AvrPiz-t is involved in rice basal resistance against *Magnaporthe oryzae*. *Rice (New York, N. Y.)*, 2017, 10(1): 5.
- [76] Singh R, Dangol S, Chen Y, et al. *Magnaporthe oryzae* effector AVR-Pii helps to establish compatibility by inhibition of the rice nadp-malic enzyme resulting in disruption of oxidative burst and host innate immunity. *Molecular Cell*, 2016, 39(5): 426—438.
- [77] Wang R, Ning Y, Shi X, et al. Immunity to rice blast disease by suppression of effector-triggered necrosis. *Current Biology*, 2016, 26(18): 2399—2411.
- [78] Orbach MJ, Farrall L, Sweigard JA, et al. A telomeric avirulence gene determines efficacy for the rice blast resistance gene Pi-ta. *The Plant Cell*, 2000, 12(11): 2019—2032.
- [79] Ribot C, Cesari S, Abidi I, et al. The *Magnaporthe oryzae* effector AVR1-CO39 is translocated into rice cells independently of a fungal-derived machinery. *Plant Journal*, 2013 74: 1—12.
- [80] Yoshida K, Saitoh H, Fujisawa S, et al. Association genetics reveals three novel avirulence genes from the rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*. *The Plant Cell*, 2009, 21: 1573—1591.
- [81] Bohnert HU, Fudal I, Dioh W, et al. A putative polyketide synthase/peptide synthetase from *Magnaporthe grisea* signals pathogen attack to resistant rice. *The Plant Cell*, 2004, 16(9): 2499—2513.
- [82] Wu J, Kou Y, Bao J, et al. Comparative genomics identifies the *Magnaporthe oryzae* avirulence effector AvrPi9 that triggers Pi9-mediated blast resistance in rice. *New Phytologist*, 2015, 206(4): 1463—1475.
- [83] Zhang S, Wang L, Wu W, et al. Function and evolution of *Magnaporthe oryzae* avirulence gene AvrPib responding to the rice blast resistance gene Pib. *Scientific Reports*, 2015, 5: 11642.
- [84] Ray S, Singh PK, Gupta DK, et al. Analysis of *Magnaporthe oryzae* genome reveals a fungal effector, which is able to induce resistance response in transgenic rice line containing resistance gene, Pi54. *Frontiers in Plant Science*, 2016, (7): 1140.
- [85] Kang S, Sweigard JA, Valent B. The PWL host specificity gene family in the blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1995, 8(6): 939—948.

- [86] Saitoh H, Fujisawa S, Mitsuoka C, et al. Large-scale gene disruption in *Magnaporthe oryzae* identifies MC69, a secreted protein required for infection by monocot and dicot fungal pathogens. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(5): e1002711.
- [87] Wang Y, Wu J, Kim SG, et al. *Magnaporthe oryzae*-secreted protein MSP1 induces cell death and elicits defense responses in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2016, 29(4): 299—312.
- [88] Giraldo MC, Valent B. Filamentous plant pathogen effectors in action. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(11): 800—814.
- [89] Chen S, Songkumarn P, Venu RC, et al. Identification and characterization of in planta-expressed secreted effector proteins from *Magnaporthe oryzae* that induce cell death in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013, 26(2): 191—202.
- [90] Sharpee W, Oh Y, Yi M, et al. Identification and characterization of suppressors of plant cell death (SPD) effectors from *Magnaporthe oryzae*. *Molecular Plant Pathology*, 2017, 18(6): 850—863.
- [91] Mogga V, Delventhal R, Weidenbach D, et al. *Magnaporthe oryzae* effectors MoHEG13 and MoHEG16 interfere with host infection and MoHEG13 counteracts cell death caused by Magnaporthe-NLPs in tobacco. *Plant Cell Reports*, 2016, 35: 1169—1185.
- [92] 王洪凯, 林福呈, 王政逸. 植物病原真菌附着胞的机械穿透力. *菌物学报*, 2004, 23(1): 151—157.

How do Pathogens Achieve Infection into Host: Insight into the Pathogenesis of *Magnaporthe oryzae*

Liu Xinyu Liu Muxing Yin Ziyi Zhang Haifeng Zhang Zhengguang*

College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095

Abstract Rice is the most important food crop across the world and it feeds over three billion people. Rice production is constantly challenged by attacks from various pathogens including the ascomycete fungus *Magnaporthe oryzae* (*M. oryzae*) that causes rice blast, the most devastating disease of rice and threatens global food security. Interestingly, rice has evolved sophisticated immunity conferring every single host cell the ability to launch an immune response against *M. oryzae* infection. How does *M. oryzae* cope with the rice immune response during its interaction with the host and maintain its pathogenicity? This review summarizes the current understanding of the mechanisms by which *M. oryzae* subverts the host-derived immunity to colonize rice cells. For example, how it recognizes surface cues to form infectious structure appressoria. We also look ahead to the key points that need to be addressed to provide a better understanding of the molecular pathogenesis process and the prospects of scientific control for rice blast.

Keywords *Magnaporthe oryzae*; appressorium; effector; pathogenesis; field variation

(责任编辑 张强 吴妹)

* Corresponding Author, Email: zhgzhang@njau.edu.cn