

研究报告

Research Reports

稻瘟病菌 F-box 蛋白 MoFbr7 生物学功能分析

张梦园, 潘锐, 谭乐勇, 郭敏*

(安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036)

摘要 F-box 蛋白在泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin-proteasome pathway, UPP)中参与调控胞内蛋白降解、受体识别、信号传导等生物学过程。本研究从稻瘟病菌中克隆了 F-box 基因 *MoFbr7*, 序列分析表明, 该基因编码产物具有 1 个 F-box 结构域(N-端)和 8 个连续的 WD40 重复序列(C-端), 在丝状真菌中高度保守。利用基因敲除方法, 获得 4 个 *MoFbr7* 基因敲除突变体, 同时构建了回补菌株。表型分析结果显示, *MoFbr7* 基因缺失突变体在产孢量、附着胞形态、原生质体释放、致病性等方面均无异常。突变体在 MM、RDC 培养基上生长速率下降; 对细胞壁胁迫因子 CFW(Calcofluor white)、刚果红敏感。以上结果表明 *MoFbr7* 参与稻瘟病菌的营养生长与细胞壁完整性, 为进一步揭示其生物学功能奠定基础。

关键词 稻瘟病菌; F-box 蛋白; 基因敲除; 功能分析

中图分类号: S 435.111.41 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2018135

Functional analysis of F-box protein MoFbr7 in *Magnaporthe oryzae*

ZHANG Mengyuan, PAN Rui, TAN Leyong, GUO Min

(College of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract F-box protein is involved in the regulation of intracellular protein degradation, receptor recognition, signal transduction and other biological processes in the ubiquitin-proteasome pathway (UPP). In this study, we identified an F-box protein MoFbr7 in the rice blast fungus. Sequence analysis showed that MoFbr7 had an F-box domain at the N-terminal and a WD40 repeats at the C-terminal, and was highly conserved among filamentous fungi based on the phylogenetic analysis. Four knockout mutants of *MoFbr7* were obtained by gene knockout method and a complementary strain was constructed based on the deletion mutant. Phenotypic analysis showed that there were no significant differences in sporulation, conidial production, protoplast release and pathogenicity compared with the wild-type strain Guy11. However, the growth rate of $\Delta MoFbr7$ was significantly decreased on MM and RDC media. The knockout strains were sensitive to the cell wall stressors Calcofluor white (CFW) and Congo Red (CR). The above results indicated that MoFbr7 was involved in vegetative growth and cell wall integrity, supplying the foundation for further revealing its biological functions.

Key words *Magnaporthe oryzae*; F-box protein; gene knock-out; functional analysis

稻瘟病菌 *Magnaporthe oryzae* 是引起稻瘟病的病原菌, 对全球水稻产量及品质造成严重威胁^[1]。十几年来, 世界各国科学家已对稻瘟病菌进行了全面系统的研究, 为稻瘟病菌作为分子生物学模式生物研究植物病原真菌致病机理打下坚实的基础^[2-3]。

F-box 蛋白广泛存在于真核生物中, 在细菌和蓝藻中也有发现^[4]。该蛋白最先在人体中被发现并

被鉴定为泛素连接酶复合物(Skp1-Cullin1-F-box, SCF)的底物识别亚基^[5], 在泛素-蛋白酶体途径中不可或缺^[6]。有研究表明, SCF 复合体可以在植物中合成, 可能控制多种代谢途径中涉及的数百个底物的稳定性^[7]。另外, F-box 蛋白在不同物种中数量差距悬殊。全基因组重复(whole genome duplication, WGD)可大大增加 F-box 基因的数量。基因丢

收稿日期: 2018-03-28 修订日期: 2018-05-21

基金项目: 安徽省自然科学基金青年基金(1608085QC49)

* 通信作者 E-mail: kandlemon@163.com

失在 WGD 后迅速发生^[8],不同物种的不同基因丢失率也会导致 F-box 基因数量波动^[9],还有一些植物可能倾向于消除冗余基因,确保在特定环境条件下生存^[10]。F-box 蛋白不仅含有 F-box 基序,还包括其他结构域^[11],如 WD40 (tryptophan aspartic acid 40)重复域、富含亮氨酸的重复域(leucine-rich repeat, LRR)、FBD 结构域(F-Box and BRCT domain)、PAS 结构域(Per Arnt Sim)、PPR 结构域(pentatricopeptide repeat)、TUB 结构域(tubby)、Kelch 结构域(Kelch repeats)^[12]和环指结构域(really interesting new gene, RING finger)等。

近年来,在真核生物中,已经鉴定出许多 F-box 基因与细胞凋亡、细胞器的发生、DNA 的转录和修复、核糖体的合成等生命活动密切相关^[13-14]。有研究表明,酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 中的 Grr1 在细胞周期中不可或缺^[15]。为探究 Grr1 在稻瘟病菌中的同源物是否也具有类似功能,本文对稻瘟病菌中同源物 *MoFbr7* 且含有 F-box 结构域的基因进行初步功能分析,有助于了解 *MoFbr7* 对稻瘟病菌的调控机制。

1 材料与方法

1.1 材料

稻瘟病菌野生型菌株 Guy11、酵母菌株 FY834、大肠杆菌 *Escherichia coli* 菌株 DH5 α 、农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* 菌株 EHA105 均由本研究室保存。*MoFbr7* 敲除及回补菌株在本研究中获得,采用滤纸片法保存于 -20℃。

水稻感病品种‘CO39’和大麦品种‘Golden Promise’均保存于本真菌研究室。

1.2 *MoFbr7* 蛋白序列的获得与分析

在数据库 (<https://genome.jgi.doe.gov/programs/fungi/index.jsf>) 中获得酿酒酵母菌中 Grr1 的氨基酸序列,然后在稻瘟病菌中进行 Blastp 分析,找到 22 个同源基因。本文将其中一个含有 F-box 结构域的基因 MGG_06372.6 (F-box/WD repeat-containing protein 7) 命名为 *MoFbr7*,并对其序列保守性进行了分析。对数据库中获取的 *MoFbr7* 氨基酸序列,利用 SMART 工具对其结构域进行分析。于 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中使用 Blastp 搜索工具获得其他同源物序列。用 BioEdit 和 MEGA 7.0 软件对 *MoFbr7* 和其他序列进行比对并构建系统进化树。

1.3 *MoFbr7* 基因敲除及回补载体的构建及转化

根据数据库提供的基因组序列,以稻瘟病菌菌

株 Guy11 的基因组 DNA 为模板,使用 GL547(F)/GL548(R)和 GL549(F)/GL550(R)分别扩增 *MoFbr7* 上下游各 1.0 kb 左右的片段。将上下游片段与潮霉素磷酸转移酶基因(HPH)片段混合,利用酵母同源重组的方法整合到经 Sal I 酶切的 ps110 载体上,从而获得敲除载体 ps110::*MoFbr7*::HPH。

设计引物 GL1168(F)/GL1169(R)扩增包括 *MoFbr7* 基因的全长片段,连接至 ps1102 载体(含有萎锈灵抗性基因 CBX)上,构建成为回补载体 ps1102::*MoFbr7c*::CBX。通过农杆菌的方式将 ps110::*MoFbr7*::HPH 整合于 Guy11 菌株,并使用 200 μ g/mL 潮霉素筛选;将 ps1102::*MoFbr7c*::CBX 整合于 Δ *MoFbr7* 并使用 50 μ g/mL CBX 抗性筛选。所用引物序列见表 1。

1.4 *MoFbr7* 基因敲除及回补转化子的鉴定

提取所有转化子基因组,用上游臂外引物和 HPH 片段上引物 GL1381(F)/GL557(R)进行 PCR 检测,可扩增出 1 993 bp 条带,且用下游臂外引物和 HPH 上引物 GL558(F)/GL1382(R)可扩增出 2 264 bp 条带的转化子为待定的敲除突变体。提取所有待定转化子及野生型总 RNA,反转录合成 cDNA。进一步利用 GL1460(F)/GL1461(R)对其进行 RT-PCR 分析检测,不能得到 555 bp 产物的菌株,则为敲除突变体;回补转化子中得到 555 bp 产物的则为回补菌株,以 Actin 扩增结果为对照。所用引物序列见表 1。

1.5 *MoFbr7* 突变体的表型分析

1.5.1 营养生长

从 Δ *MoFbr7*、*MoFbr7c* 及 Guy11 菌落边缘切取边长为 2 mm 的正方形菌块,分别接种于 CM(complete medium)、OM(oatmeal medium)、MM(minimal medium)及 RDC(rice medium)培养基上,置于 28℃ 培养,7 d 后观察菌落生长形态并测量直径。

1.5.2 产孢

从 Δ *MoFbr7*、*MoFbr7c* 及 Guy11 菌株菌落边缘切取菌块,接种于 RDC 产孢培养基中,置于 28℃ 恒温箱中培养 6 d,转于 40 W 黑光灯下诱导产孢,3 d 后,分别用 4 mL 灭菌水洗涤供试菌株,收集分生孢子,并在显微镜下观察孢子形态与数量。

1.5.3 附着胞形成

分别收集各个菌株的孢子并将浓度稀释为 5×10^4 个/mL。滴于疏水玻片以监测附着胞的发生,25℃ 避光培养。分别于 2、4、8、12、24 h 显微镜下监测附着胞发生情况。

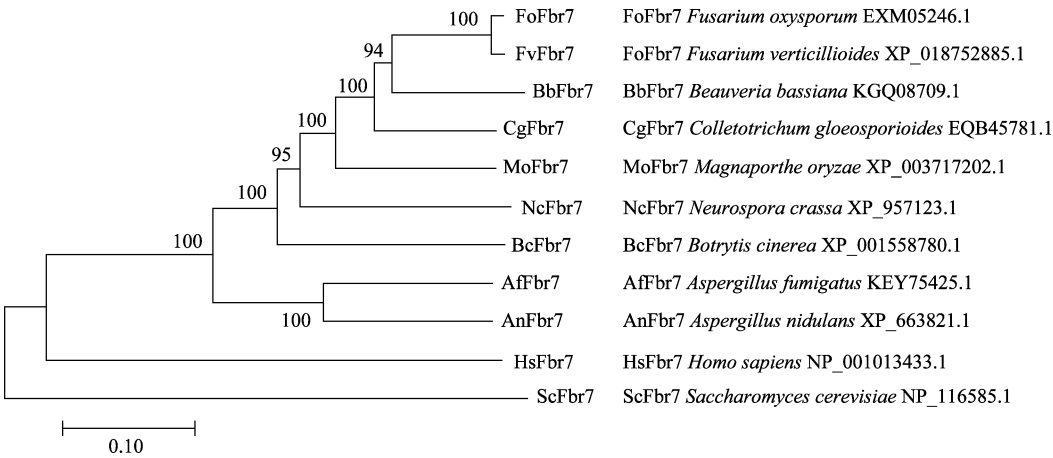


图 2 MoFbr7 蛋白的系统发育进化树
Fig. 2 Phylogenetic analysis of MoFbr7

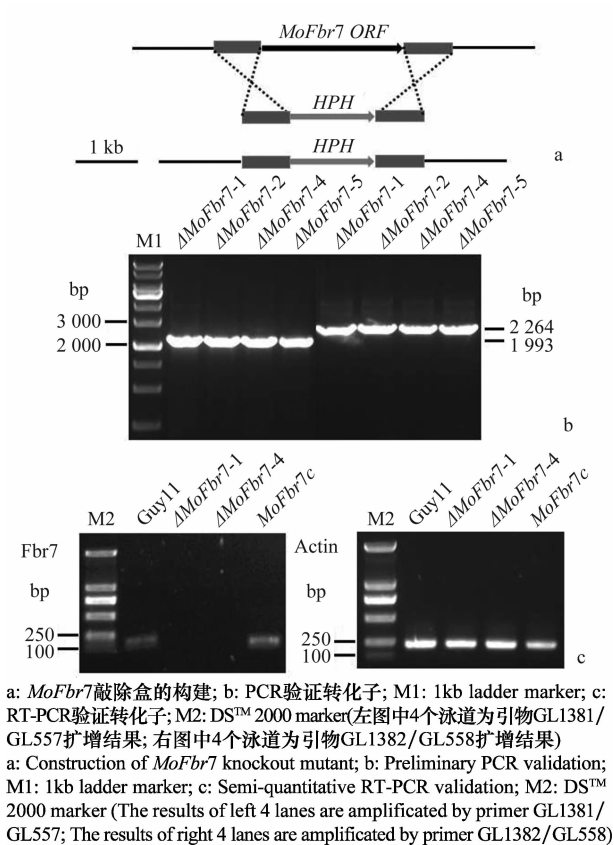


图 3 敲除及回补突变体的构建与验证
Fig. 3 Construction and verification of knockout and complementary mutants

2.3 MoFbr7 表型鉴定

2.3.1 营养生长

$\Delta MoFbr7$ 在 CM、OM 平板上的生长速率正常；但在 MM 和 RDC 平板上， $\Delta MoFbr7$ 菌株生长速率分别降低 7.58% 和 10.38% (图 4)，说明 $\Delta MoFbr7$ 参与调控稻瘟病菌对部分营养物质的利用。

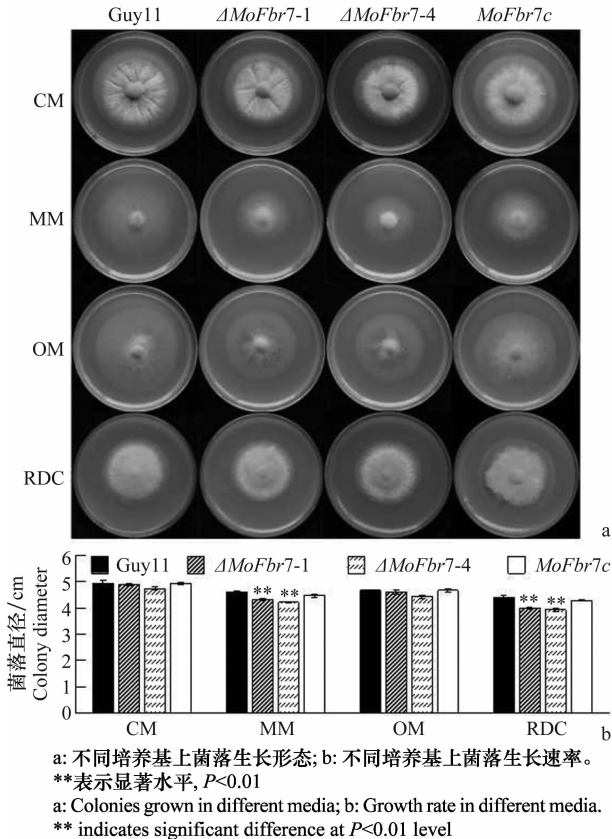


图 4 MoFbr7 在不同培养基上菌落生长形态和生长速率
Fig. 4 Colonies and growth rates of MoFbr7 mutants

2.3.2 产孢量

在 RDC 培养条件下，进一步分析 $\Delta MoFbr7$ 的产孢情况。结果显示， $\Delta MoFbr7$ 分生孢子形态没有异常 (图 5a)，附着胞形态也与野生型菌株一致 (图 5b)。另外， $\Delta MoFbr7$ 的孢子形成量也未受到影响 (图 5c)。表明 $MoFbr7$ 与分生孢子的形成及附着胞发育没有重要关系。

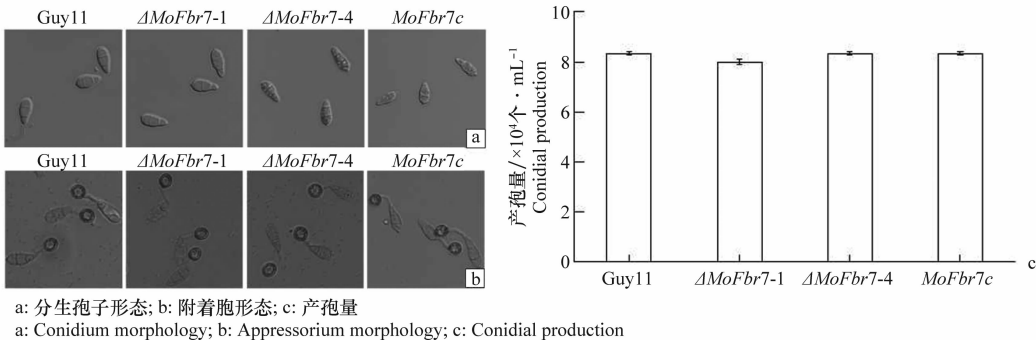


图 5 *MoFbr7* 的产孢与附着胞形成

Fig. 5 Conidial production and appressorium formation of *MoFbr7*

2.3.3 突变体分生孢子对大麦表皮的侵染

于 24 h 时撕取处理过的大麦表皮,发现 $\Delta MoFbr7$ 的侵入栓形成没有异常。36 h 后发现突变体成功侵入到表皮细胞内并分化形成侵染菌丝,侵入率与野生型相当,且菌丝分化程度也与野生型基本一致(图 6a),48 h 时 $\Delta MoFbr7$ 菌丝能正常扩展数据未

展示。表明 *MoFbr7* 在侵染过程中不起关键作用。

2.3.4 致病性

进一步将收集的 $\Delta MoFbr7$ 孢子喷洒于水稻叶片,7 d 后观察到所有叶片上产生典型病斑,数目与形态皆与野生型无区别(图 6b)。可见,*MoFbr7* 基因与其对水稻的毒力不相关。

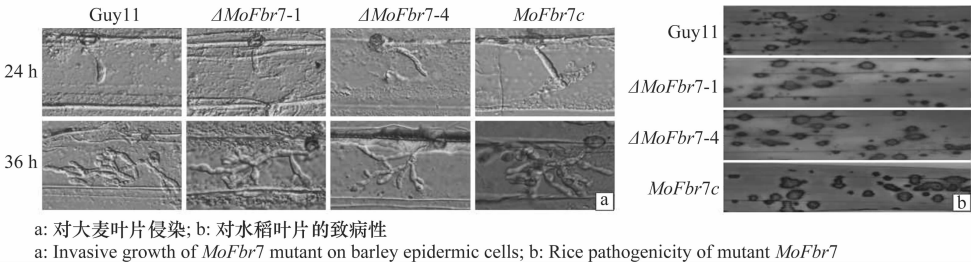


图 6 *MoFbr7* 的侵染与致病能力

Fig. 6 The invasive growth and pathogenicity of *MoFbr7*

2.3.5 对胁迫因子的敏感性及原生质体释放

在补充了各种类型胁迫因子的 CM 培养基上培养 *MoFbr7* 突变体和 Guy11 菌株,评估 *MoFbr7* 突变体对渗透压和氧化应激的敏感性。结果显示,在含有 CFW 和 CR 的培养基上, $\Delta MoFbr7$ 抑制率较

野生型分别高 12.3% 和 10.5% (图 7a~b)。结果表明, *MoFbr7* 基因的缺失可能使稻瘟病菌的细胞壁组分发生变化。进一步原生质体释放观察显示,突变体的原生质体释放量与野生型无异(图 7c)。

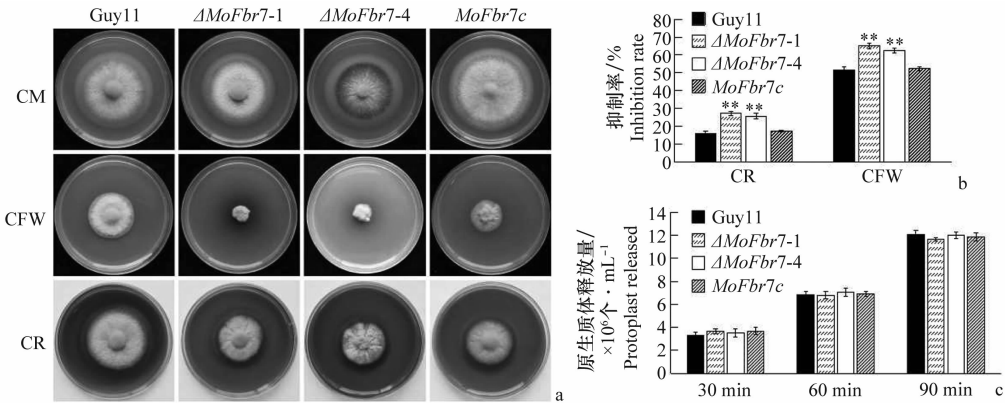


图 7 *MoFbr7* 对细胞壁胁迫因子 CFW 和 CR 的敏感性

Fig. 7 Sensitivity of *MoFbr7* mutants to CFW and CR

3 小结与讨论

酿酒酵母中 Grr1 参与细胞对营养的摄取,并且影响蛋白降解,进一步调控细胞周期^[15]。本研究室在前期试验中发现,稻瘟病菌中 Mofbox 参与营养生长、产孢、附着胞形成,同时影响对寄主的毒力^[16]。Mogrr1 影响菌株的生长速率、黑色素沉着、分生孢子梗的形成、对外源胁迫因子耐受性及对水稻的毒力^[17]。

本研究对一个新的 F-box 基因 *MoFbr7* 进行鉴定,该基因的生物信息学结果表明,其编码产物具有 1 个典型的 F-box 结构域和 8 个连续的 WD40 结构域,并在丝状真菌中具有高度保守性。作为 F-box 蛋白的一种,WD40 蛋白被鉴定涉及细胞周期中的多种功能。在稻瘟病菌中,WD40 重复蛋白 MoCreC 影响碳分解代谢阻抑(carbon catabolite repression, CCR)并且涉及稻瘟病菌的分生孢子、生长和致病性^[18]。因此,*MoFbr7* 基因具有参与调控对寄主毒力的可能性。

进一步表型分析结果表明,稻瘟病菌 *MoFbr7* 突变体在产孢量、分生孢子形成及对寄主致病性与野生型菌株没有显著差异,这可能来源于基因功能冗余的原因。突变体在 CM 和 OM 培养基中与野生型无显著差异,而 MM 培养基及 RDC 培养基中呈现菌丝生长速率下降,说明 *MoFbr7* 可能参与稻瘟病菌营养生长且对部分营养物质的利用与酿酒酵母中 Grr1 参与营养物质摄取这一结果相吻合。此外, $\Delta MoFbr7$ 对细胞壁胁迫因子敏感,表明 *MoFbr7* 敲除突变体细胞壁组分可能发生变化。但是细胞壁的变化并没有影响 $\Delta MoFbr7$ 在裂解酶处理下的原生质体释放量,说明这种变化可能只是微弱的,对细胞壁完整性的影响不大。在玉米黑粉菌 *Ustilago maydis* 中,pm4 和 Kre2 被发现对细胞壁胁迫因子敏感,但致病性分析显示,仅有 pm4 参与发病^[19]。由此可见,轻微的细胞壁完整性改变并不是致病的关键因子,这可能是 *MoFbr7* 对 CFW 和 CR 敏感但最终不致病的原因。

综上所述,本文通过基因敲除方法对 *MoFbr7* 的生物学功能进行分析,对于其参与菌丝生长发育、调控细胞壁完整性及其他信号通路的分子机制,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 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.
- [2] SAKULKOO W, OSES-RUIZ M, OLIVEIRA GARCIA E, et al. A single fungal MAP kinase controls plant cell-to-cell invasion by the rice blast fungus [J]. Science, 2018, 359 (6382): 1399–1403.
- [3] LI Xiao, GAO Chuyun, LI Lianwei, et al. MoEnd3 regulates appressorium formation and virulence through mediating endocytosis in rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J/OL]. PLoS Pathogens, 2017, 13(6): e1006449.
- [4] LECHNER E, ACHARD P, VANSIRI A, et al. F-box proteins everywhere [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2006, 9(6): 631–638.
- [5] KIPREOS E T, MICHELE P. The F-box protein family [J]. Genome Biology, 2000, 1(5): 1–7.
- [6] 杨杨杨, 李淑晶, 伍会健. F-box 蛋白家族在肿瘤发生中的作用[J]. 中国细胞生物学学报, 2015, 37(8): 1180–1186.
- [7] JIN J, ANG X L, SHIROGANE T, et al. Identification of substrates for F-Box proteins [J]. Methods in Enzymology, 2005, 399(12): 287–309.
- [8] WANG Yupeng, WANG Xiyin, PATERSON A H. Genome and gene duplications and gene expression divergence: a view from plants [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2012, 1256(1): 1–14.
- [9] SMET R D, ADAMS K L, VANDEPOELE K, et al. Convergent gene loss following gene and genome duplications creates single-copy families in flowering plants [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(8): 2898–2903.
- [10] IBARRA-LACLETTE E, LYONS E, HERNÁNDEZ-GUZMÁN G, et al. Architecture and evolution of a minute plant genome [J]. Nature, 2013, 498(7452): 94–98.
- [11] KURODA H, TAKAHASHI N, SHIMADA H, et al. Classification and expression analysis of *Arabidopsis* F-box-containing protein genes [J]. Plant & Cell Physiology, 2002, 43(10): 1073–1085.
- [12] MAJEE M, KUMAR S, KATHARE P K, et al. KELCH F-BOX protein positively influences Arabidopsis seed germination by targeting PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR1 [J]. Proceedings of the National Academy of Science of the united states of America, 2018, 115(17): E4120–E4129.
- [13] PRAKASH C, MANJREKAR J, CHATTOO B B. Skp1, a component of E3 ubiquitin ligase, is necessary for growth, sporulation, development and pathogenicity in rice blast fungus (*Magnaporthe oryzae*) [J]. Molecular Plant Pathology, 2016, 17(6): 903–919.
- [14] LANG P, CHRISTIE M D, DOGAN E S, et al. A role for the F-box protein HAWAIIAN SKIRT in plant microRNA function [J]. Plant Physiology, 2018, 176(1): 730–741.

等^[25];二、及时彻底清除田间杂草,严格铲除病苗并进行土壤消毒,不宜在农田周围种植感病植物,控制感染源;三、喷施抗病毒剂^[26],可通过诱导植物对病毒产生抗性,抑制病毒装配,钝化病毒的侵染性等方式起作用;四、种植抗病的品种,如‘Red Defender’、‘Mt Glory’、‘Bella Rosa’、‘Quincy’等^[27]。

参考文献

- [1] LEFKOWITZ E J, DEMPSEY D M, HENDRICKSON R C, et al. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [J/OL]. Nucleic Acids Research, 2018, 46:D708-D717.
- [2] BRITTLEBANK C C. Tomato diseases [J]. Journal of the Department of Agriculture in Victoria, 1919, 17: 1348-1352.
- [3] 董家红,尹跃艳,徐兴阳,等. 番茄斑萎病毒在云南的发生为害 [C]//吴孔明:公共植保与绿色防控——中国植物保护学会 2010 年学术年会.北京:中国农业科学技术出版社,2010: 784.
- [4] 佟爱仔,赵兴能,孔宝华,等. 侵染云南烟草的番茄斑萎病毒 (TSWV)的 RT-PCR 检测[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2012, 27(6): 809-814.
- [5] SCHOLTHOF K B, ADKINS S, CZOSNEK H, et al. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12(9): 938.
- [6] WHITFIELD A E, ULLMAN D E, GERMAN T L. Tospovirus-thrips interactions [J]. Annual Review of Phytopathology, 2005, 43(43): 459.
- [7] ZHANG Z J, WANG D Y, YU C M, et al. Identification of three new isolates of tomato spotted wilt virus from different hosts in China: molecular diversity, phylogenetic and recombination analyses [J]. Virology Journal, 2016, 13(1): 1-12.
- [8] 赫尔 R. 马修斯植物病毒学[M].北京:科学出版社,2007:377.
- [9] 郑雪,刘春明,李宏光,等. 云南省红河地区传播番茄斑萎病毒属病毒的蓟马及其寄主植物种类调查[J]. 中国植保导刊, 2013, 33(3): 41-44.
- [10] ZHAO W W, WAN Y R, XIE W, et al. Effect of spinosad resistance on transmission of tomato spotted wilt virus by the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae)[J]. Journal of Economic Entomology, 2016, 109(1): 62-69.
- [11] AHMED M S, ADEL A R, KHALID A A. Cucurbit yellow stunting disorder virus and watermelon chlorotic stunt virus induced gene silencing in tobacco plants [J]. African Journal of Biotechnology, 2018, 17(7): 189-197.
- [12] KREUZE J F, PEREZ A, UNTIVEROS M, et al. Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: a generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses [J]. Virology, 2009, 388(1): 1-7.
- [13] 宋静静,蒙姣荣,邹承武,等. 用小 RNA 深度测序鉴定广西冬种马铃薯病毒[J]. 中国农业科学,2013,46(19):4075-4081.
- [14] 仇心钰,郝丹丹,韩成贵,等. 利用小 RNA 深度测序对我国北方地区甜菜病毒病的调查[C]//吴学宏.植物病理学研究进展——中国植物病理学会青年学术研讨会论文选编.北京:中国农业大学出版社,2015: 126.
- [15] 苏秀,徐毅,陈莎,等. 利用小 RNA 深度测序和组装技术鉴定紫藤花叶病病原[J]. 植物病理学报, 2015, 45(1): 88-92.
- [16] 王芳,高正良,周本国,等. 利用小 RNA 高通量测序技术检测玉米病毒[J]. 植物病理学报, 2017, 47(3): 422-427.
- [17] 廖倩,张治军,张玉秀,等. 西花蓟马数量与番茄斑萎病毒发生流行的关系[J]. 浙江农业学报, 2015, 27(9): 1601-1605.
- [18] 姚革. 四川晒烟上发现番茄斑萎病毒 (TSWV) [J]. 中国烟草科学, 1992(4): 2-4.
- [19] 李飞,吴青君,徐宝云,等. 北京地区发现番茄斑萎病毒[J]. 植物保护, 2012, 38(6): 186-188.
- [20] 李洁,迟胜起,杨勤民,等. 山东烟台地区发生番茄斑萎病毒病危害[J]. 植物保护, 2017, 43(1): 228-232.
- [21] 曹金强,谢学文,柴阿丽,等. 番茄斑萎病毒病在宁夏的发现与防治[J]. 中国蔬菜, 2016(4): 87-89.
- [22] 饶雪琴,刘勇,李媛媛,等. 广东番茄上检测到 Tospovirus 病毒[J]. 植物病理学报, 2010, 40(4): 430-432.
- [23] 张璐璐. 防治西花蓟马的球孢白僵菌液固双相发酵条件优化 [D]. 北京:中国农业科学院, 2016.
- [24] 吴鑫本. 番茄斑萎病毒的防治与检疫[J]. 现代农业科学, 2008, 15(11): 95-96.
- [25] 张洁,陈永对,吴阔,等. 6 种杀虫剂对烟田番茄斑萎病毒属病毒传毒蓟马的药效试验[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(4): 95-97.
- [26] 吕印谱,丁征字,宋宝安,等. 抗植物病毒剂作用机制研究进展[J]. 中国植保导刊, 2007, 27(10): 14-16.
- [27] FUNDERBURK J, REITZ S, OLSON S, et al. Managing thrips and tospoviruses in tomato [J]. Entomology & Nematology, 2015, 18(6): 785-788.

(责任编辑:田 喆)

(上接 24 页)

- [15] BARRA Y, JENTSCH S, MANN C. G1 cyclin turnover and nutrient uptake are controlled by a common pathway in yeast [J]. Genes & Development, 1995, 9(4): 399-409.
- [16] 喻海峰,高飞,朱小蕾,等. 稻瘟病菌 *Mo1box* 基因缺失突变体构建及生物学表型分析[J]. 安徽农业大学学报,2013,40(5):752-757.
- [17] GUO M, GAO F, ZHU X, et al. MoGrr1, a novel F-box protein, is involved in conidiogenesis and cell wall integrity and is critical for the full virulence of *Magnaporthe oryzae* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(19): 8075-8088.
- [18] MATAR K, CHEN X, CHEN D, et al. WD40-repeat protein MoCreC is essential for carbon repression and is involved in conidiation, growth and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae* [J]. Current Genetics, 2017, 63(4): 685-696.
- [19] FERNÁNDEZ-ALVAREZ A, ELÍAS-VILLALOBOS A, IBEAS J I. The O-mannosyltransferase PMT4 is essential for normal appressorium formation and penetration in *Ustilago maydis* [J]. Plant Cell, 2009, 21(10): 3397-3412.

(责任编辑:田 喆)