



吴珂妍, 千慧敏, 赵俊溢, 李闯, 路亚南, 邢国珍, 刘娜, 郑文明. 小麦3种锈菌PCWDEs家族基因鉴定及表达分析[J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(04): 113-127.
WU Keyan, QIAN Huimin, ZHAO Junyi, LI Chuang, LU Yanan, XING Guozhen, LIU Na, ZHENG Wenming. Identification and expression analysis of PCWDEs family genes in three wheat rust fungi[J]. Journal of China Agricultural University, 2024, 29(04): 113-127.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.04.10

小麦3种锈菌PCWDEs家族基因鉴定及表达分析

吴珂妍¹ 千慧敏¹ 赵俊溢¹ 李闯² 路亚南¹ 邢国珍¹ 刘娜^{1*} 郑文明^{2*}

(1. 河南农业大学 生命科学学院, 郑州 450002;

2. 省部共建小麦玉米作物学国家重点实验室, 郑州 450002)

摘要 为挖掘小麦锈菌侵染过程中发挥关键作用的植物细胞壁降解酶(Plant cell wall-degrading enzymes, PCWDEs)基因,通过生物信息学方法对小麦3种锈菌(叶锈菌、条锈菌和秆锈菌)基因组中的碳水化合物活性酶(Carbohydrate-active enzymes, CAZymes)进行预测分析,在此基础上对其中的PCWDEs基因家族进行全基因组范围的筛选鉴定,并利用qRT-PCR方法对叶锈菌PCWDEs家族成员在侵染过程中的转录水平进行了检测分析。结果表明:1)小麦叶锈菌、条锈菌和秆锈菌基因组分别编码355、322和345个CAZymes家族成员基因以及160、153和158个PCWDEs基因;小麦3种锈菌共含75个保守CAZymes基因亚家族和94个PCWDEs直系同源基因簇。2)16个叶锈菌特异性PCWDEs基因在亲和(Pt15-‘中国春’)/非亲和(Pt15-‘云麦34’)互作过程中均受到不同程度的诱导表达,但非亲和互作中在侵染更早期就已受到诱导上调表达。3)叶锈菌特异性PCWDEs基因簇中有4个PCWDEs被鉴定为类扩展蛋白,其在侵染过程中受到诱导表达,说明类扩展蛋白可能在降解纤维素突破侵染屏障中发挥重要作用。综上,在小麦3种锈菌全基因组范围鉴定了PCWDEs基因,初步明确部分基因在锈菌侵染过程中的表达模式,PCWDEs可能在小麦锈菌致病过程中发挥重要作用。

关键词 小麦锈菌; PCWDEs; 生物信息学分析; qRT-PCR; 侵染机制

中图分类号 S512

文章编号 1007-4333(2024)04-0113-15

文献标志码 A

Identification and expression analysis of PCWDEs family genes in three wheat rust fungi

WU Keyan¹, QIAN Huimin¹, ZHAO Junyi¹, LI Chuang², LU Ya'nan¹, XING Guozhen¹,
LIU Na^{1*}, ZHENG Wenming^{2*}

(1. College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. State Key Laboratory of Wheat and Maize Crop, Zhengzhou 450002, China)

Abstract In order to explore the key plant cell wall-degrading enzymes (PCWDEs) genes, which play critical roles in the infection of wheat rust, bioinformatics methods were used to identify and analyze the Carbohydrate-active enzymes (CAZymes) existed in the genomes of three wheat rust fungi including *Puccinia triticina* (Pt), *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (Pst) and *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (Pgt). The PCWDEs gene family was screened and identified from these CAZymes genes. The expression patterns for selected PCWDEs members of Pt were analyzed by qRT-PCR. The results showed as follows: 1) The genomes of wheat rust fungi encode 355, 322 and 345 CAZymes family members, and contain 160,

收稿日期: 2023-11-13

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD1401000); 河南省重大科技专项(221100110100); 河南农业大学拔尖人才项目(30500924)

第一作者: 吴珂妍(ORCID: 0009-0003-1092-6245), 硕士研究生, E-mail: 1079339116@qq.com

通讯作者: 刘娜(ORCID: 0000-0003-0382-6345), 副教授, 主要从事作物分子生物学及功能基因组学研究, E-mail: naliu@henau.edu.cn

郑文明(ORCID: 0000-0002-7709-2164), 教授, 主要从事农业基因组学研究, E-mail: wmzheng@henau.edu.cn

153 and 158 PCWDEs family members, for *Pt*, *Pst*, and *Pgt*, respectively. There are 75 conserved CAZymes gene subfamilies and 94 orthologous gene clusters of PCWDEs in three wheat rust fungi. 2) 16 PCWDEs of *Pt* unique genes were induced at differential levels in compatible (Pt15-‘Chinese Spring’) and incompatible (Pt15-‘Yunmai 34’) combinations, and some of them were up-regulated earlier in the incompatible combinations. 3) Four *Pt* unique PCWDEs belonging to one gene cluster of *Pt* were homologous to extension-like proteins, which were also regulated for transcriptional level during the infection. In summary, all PCWDEs of wheat rust fungi in genome wide were identified, and the transcriptional patterns of some candidates were detected. The results in this study indicated that PCWDEs might play an important role during the infection of rust fungi.

Keywords wheat rust fungi; PCWDEs; bioinformatics; qRT-PCR; pathogenic mechanism

小麦锈菌包含叶锈菌(*Puccinia triticina*, *Pt*)、条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, *Pst*)和秆锈菌(*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *Pgt*),作为活体营养专性寄生真菌,引发的小麦锈病对小麦产量造成较大损失^[1]。锈菌与寄主表面接触后,通过气孔侵入寄主,形成气孔下囊,然后产生入侵菌丝并形成吸器,通过吸器为自身提供营养,完成定殖^[2]。目前种植抗病品种是防控锈病最经济有效的方式之一^[3],但在寄主-病原菌共同进化的过程中,锈菌频繁的毒力变异容易导致小麦品种抗性丧失^[4]。因此,挖掘锈菌毒性相关基因,阐明锈菌侵染小麦的分子机制有助于创制新的抗病种质资源。

从病原菌致病因子(毒性)入手,鉴定病菌致病靶点及其调控的寄主互作(防御/免疫)靶点,并通过寄主诱导的基因沉默(Host-induced gene silencing, HIGS)或寄主抗/感病基因的基因编辑可以创制抗病新种质。例如, Qi等^[5]在筛选明确小麦条锈菌重要致病因子基础上,通过 HIGS 和 RNAi 技术靶向沉默小麦条锈菌 *PsCPK1* 基因,创制了持久抗条锈病的转基因小麦。Wang等^[6]在解析小麦条锈菌致病因子 *PsSPG1* 的基础上,明确了其调控小麦免疫因子 *TaPSIPK1* 导致感病,通过基因编辑的方法获得了 *TaPSIPK1* 功能缺失株系,实现了对小麦锈病的广谱抗性。

植物细胞壁主要由纤维素、半纤维素、果胶和木质素组成,是抵御机械损伤和病原菌入侵的第一道物理屏障^[7]。病原菌在侵染过程中通过分泌 PCWDEs 降解植物细胞壁,这一过程中产生的碳水化合物能被病原菌利用,同时也会影响植物的免疫反应^[8]。不同营养型真菌基因组含有的细胞壁降解酶(CWDEs)数量不同,死体营养型病原菌的 CWDEs 数量多于半活体和活体营养型真菌^[9]。

所有植物病原真菌分泌的 PCWDEs 均属于 CAZymes^[10]。这些 CAZymes 分为糖苷水解酶(Glycoside Hydrolases, GHs)、碳水化合物酯酶(Carbohydrate Esterases, CEs)、氧化还原酶(Auxiliary Activities, AAs)、糖基转移酶(Glycosyl Transferases, GTs)、多糖裂解酶(Polysaccharide Lyases, PLs)和碳水化合物结合模块(Carbohydrate-Binding Modules, CBMs)^[11]。目前,已有多数 CAZymes 亚家族被证明参与植物-病原菌互作途径,是病原菌侵染植物细胞的重要毒力因子^[12-13]。Yang等^[14]发现来自稻瘟菌的糖苷水解酶 GH12 家族基因 *MoCel12A/B* 作为损伤相关模式分子(DAMPs)参与植物-病原菌互作;Federico等^[15]将 AA17 家族鉴定为铜结合裂解多糖单加氧酶(LPMO),LPMO 可以降解果糖并负调植物免疫反应;Bilal等^[16]报道了玉米黑粉菌中具有 CBM 和 GH51 双结构域的 β -1,3-葡聚糖酶 UmErc1,该酶可以结合植物细胞壁并抑制植物免疫应答。

CAZymes 在病原真菌侵染和定殖寄主过程中发挥着先导、信号等多种不可替代的作用,解析其作用机制对阐明病原菌的致病机制有十分重要的意义。小麦锈病是分布最广、危害最重的小麦病害之一,目前对于小麦锈菌 CAZymes 的深入研究仍十分薄弱,尤其是 PCWDEs 在锈菌侵染过程中的生物学功能尚不清楚。虽然,CAZymes 已在多种病原菌中^[14-16]被鉴定,但关于小麦锈菌 PCWDEs 家族成员的系统分析鲜少报道。本研究通过对小麦锈菌全基因组资源进行生物信息学分析,系统挖掘了 PCWDEs 家族成员,并通过 qRT-PCR 探究了小麦叶锈菌 Pt15 特异的 PCWDEs 的表达模式,旨在挖掘小麦锈菌侵染过程中发挥关键作用的基因,以期创制小麦抗锈新种质提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试小麦叶锈菌菌系为 Pt15;供试小麦品种为‘中国春’(‘Chinese Spring’, CS-Pt15 亲和互作)和‘云麦 34’(‘Yunmai 34’, YM34-Pt15 非亲和互作)。

1.2 序列来源

Pst 基因组信息下载自 NCBI,小麦条锈菌生理小种 CYR34(登录号 GCA_025169535.1)^[17]; *Pgt* 基因组信息下载自 JGI,小麦秆锈菌菌系 *Pgt*21-0(登录号 Pgt_201_A1)^[18]; *Pt* 基因组信息下载自 NCBI,小麦叶锈菌菌系 Pt15(登录号 GCA_026914185.1)^[19]。

1.3 CAZymes 家族注释

通过在线注释平台 dbCAN 使用默认参数对小麦 3 种锈菌蛋白序列进行 CAZymes 家族注释^[20]。利用 TBtools 制作小麦锈菌 CAZymes 和 PCWDEs 家族 Venn 图^[21]。

1.4 直系同源基因簇分析

选择 TBtools 对筛选到的小麦 3 种锈菌 CAZymes 家族与蛋白序列进行 blast 比对,获得小麦 3 种锈菌 CAZymes 蛋白序列。通过 orthovenn2 在线分

析^[22],*e* 设置为 10^{-5} 。

1.5 系统发育树的构建及蛋白结构预测

利用 MEGA11^[23] 的 ClustalW 程序进行序列比对,并利用默认参数寻找匹配到的最佳模型。其中 BIC 分数最低的是 MAC+A+C 模型。采用最大似然法构建进化树。使用 SiganIP 5.0^[24] 预测 CAZymes 家族蛋白质潜在信号肽,利用 SecretomeP 2.0^[25] 预测非经典分泌蛋白,通过 TMHMM-2.0^[26] 在线预测是否存在跨膜螺旋。使用 MEME^[27] 预测 motif 组成,NCBI CDD^[28] 用于预测保守结构域,利用 TBtools 制作组合图。

采用 ExPASy^[29] 分析蛋白质的一级结构,通过 Pyre2^[30] 构建蛋白的 3D 结构模型。使用 IBS 绘制蛋白结构域^[31]。使用 CBM63 和 DPBB 双结构域预测扩展蛋白^[32]。使用已报道的经典微生物和植物的扩展蛋白^[33] 构建系统进化树。

1.6 qRT-PCR 检测

取叶锈菌 Pt15 侵染 0、6、12、24、48 和 72 h 的小麦叶片。使用 Trizol 法提取样品 RNA,反转为 cDNA。根据候选基因的全长序列,利用 Oligo 7 软件进行特异性引物设计,以 *ACTIN* 为内参(表 1),

表 1 *Pt* 特异性细胞壁降解酶荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 Primers of specific PCWDEs of *Pt* used in qRT-PCR

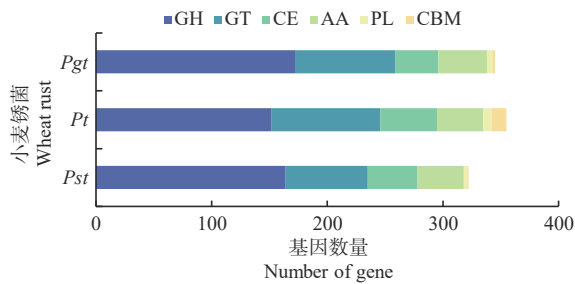
基因 Gene	正向 (5'→3') Forward	反向 (5'→3') Reverse
<i>ACTIN</i>	GTTCTACAACGAGCTCCGTGTC	GACATACATTGCTGGGCAAC
<i>PtCE1</i>	TGCTTGCTACAGCCTCGC	ACGAGTTCGATGCAGGAGGA
<i>PtCE7</i>	CGCCGATAGGGTGTGTTGACT	GTGGCACCATACAACTTGGC
<i>PtAA1</i>	TGATTCAAGCTGGCTCTCAC	GTCTCCTTCCACGCTGACC
<i>PtCE2</i>	AGTGACGCTGAACATGGGAG	CCTGCTTCTCGACCAACGAT
<i>PtCE3</i>	GGCGGAAAACCCTACAAGGA	GACGGTGTTGAAGATCCCGT
<i>PtCE4</i>	TTCAGCCAAGGTGCAGTGAT	TATTGCATCATCGGTGCCGT
<i>PtGH2</i>	ATGTGGAGTTCACGACCGTT	GGAAGGCTGAGGAGTATGGC
<i>PtCE5</i>	TTGGCGGTTATTTGACGTGC	GCCGAGTTCTGATACCCGAG
<i>PtAA4</i>	GCCTCACTCAAATCAAAGGGC	TCACGTAATCAGCAGTGGGT
<i>PtAA3</i>	TCACATTCGCTATGCTTCCGA	TGGAACCTGGACGGGTCTCTA
<i>PtAA2</i>	CCGCCATCGTCCACTCTAAA	GACACATCCCGCAGTCGTG
<i>PtGH1</i>	ACGTACGTGGTCAAAGGTGC	ACCCAGAGAGAGTGGTAGC
<i>PtGH3</i>	ACCAAATTCTAGGTGCCGGG	TTGTCCACCCAACCCGTATG
<i>PtPL1</i>	AGGGATACAGCGGAGCTACA	AGCTTGGAGTGAAACCTGGG
<i>PtPL2</i>	CCCGAAAACGGGAGGTACTG	AAACTTGGGAGTGACCAGCG
<i>PtCE6</i>	CTCGGCTCCACCTTACCTTG	GCGCAGTCCTTTACCAAACC
<i>PtCBM1</i>	AAGACCTGGCATCAGCATGT	CCCAGTAGTTGTAGTCCCGC
<i>PtCBM2</i>	CCCGAGTCAACGAAGACCAA	AACTGGCGTTCCAGGTAGTG
<i>PtCBM3</i>	TTCATAAAGTGGCCCCGACC	AGGGCATTGGTTGGACACAA
<i>PtCBM4</i>	AAGCAAGGTGCCTCCAAGTT	TTTGAGCTGGAAACCACCGA

利用 qRT-PCR 检测候选基因的相对表达量,每处理 3 次重复。使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法分析 qRT-PCR 的结果。

2 结果与分析

2.1 小麦锈菌 CAZymes 家族

由图 1 可知,小麦叶锈菌(*Pt*)基因组有 355 个基因被注释为 CAZymes 家族,包括 GH 基因 152 个,GT 基因 94 个,CE 基因 49 个,AA 基因 40 个,7 个 PL 基因和 13 个 CBM 基因;小麦条锈菌(*Pst*)基因组被注释为 CAZymes 家族成员的有 322 个,包括 GH 基因 164 个,GT 基因 71 个,CE 基因 43 个,AA 基因 40 个,3 个 PL 基因和 1 个 CBM 家族基因;小麦秆锈菌(*Pgt*)基因组含有 345 个 CAZymes 家族基因,包括 GH 家族基因 172 个,GT 家族基因 87 个,CE 家族基因 37 个,AA 家族基因 42 个,5 个 PL 家族基因和 2 个 CBM 家族基因。



Pgt 为小麦秆锈菌, *Pt* 为小麦叶锈菌, *Pst* 为小麦条锈菌。GH 为糖苷水解酶家族, CE 为碳水化合物酯酶家族, AA 为氧化还原酶家族, GT 为糖基转移酶家族, PL 为多糖裂解酶家族, CBM 为碳水化合物结合模块家族。下同。

Pgt is *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *Pt* is *Puccinia triticina* and *Pst* is *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. GH is the glycoside hydrolase family, CE is the carbohydrate esterase family, AA is the auxiliary activities family, GT is the glycosyl transferases family, PL is the polysaccharide lyase family and CBM is the carbohydrate-binding modules family. The same below.

图 1 小麦锈菌 CAZymes 家族成员组成

Fig. 1 The composition of CAZymes family members of wheat rust fungi

3 种锈菌共同含有 75 个 CAZymes 亚家族, *Pt* 的基因组包含 19 个特异性 CAZymes 亚家族(图 2)。在 *Pt* 基因组中,只有少部分基因被注释到了除 CBM63 以外的特异性 CAZymes 亚家族中,有 7 个基因被注释为 CBM63 家族成员(图 3)。

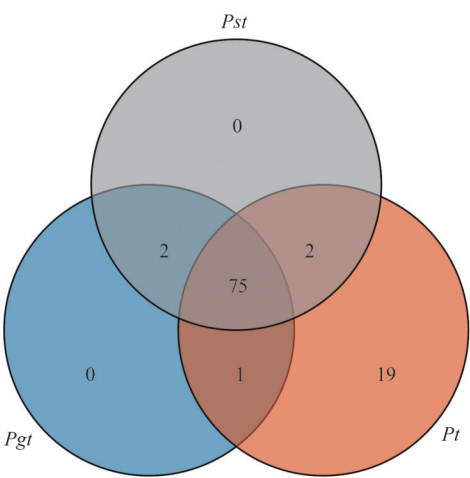


图 2 小麦锈菌 CAZymes 亚家族组成

Fig. 2 Composition of wheat rust fungi subfamily CAZymes

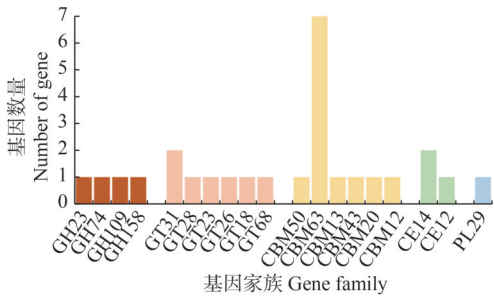


图 3 小麦叶锈菌特异性 CAZymes 亚家族组成

Fig. 3 Composition of CAZymes subfamily specific of *Pt*

2.2 小麦锈菌细胞壁降解酶家族

对小麦锈菌 CAZymes 家族进行注释(表 2), *Pt* 基因组的 160 个 CAZymes 注释为 PCWDEs; *Pst* 基因组注释到 153 个 PCWDEs 基因; *Pgt* 有 158 个 PCWDEs。3 种锈菌的 PCWDEs 包含有 94 个保守性直系同源基因簇, *Pst* 和 *Pt* 的 PCWDEs 各包含 5 个特异性同源基因簇, *Pgt* 基因组中含有 3 个特异性同源基因簇(图 4)。

由图 5 可知,在 3 种锈菌的 94 个直系同源基因簇中,大多数基因簇被注释为参与代谢过程(GO: 0008152),碳水化合物代谢过程(GO: 0005975),大分子代谢过程(GO: 0043170),多糖代谢过程(GO: 0005976),细胞代谢过程(GO: 0044237),生物过程(GO: 0008150),细胞过程(GO: 0009987);还有部分参与氮化合物代谢过程(GO: 0006807),生物体对刺激的反应(GO: 0050896),脂质代谢过程(GO: 0006629)和能量储备代谢过程(GO: 0006112)。分子功能多被注释为参与氧化还原反应(GO: 0016491)。综上,小麦锈菌直系同源基因簇只与生物过程和分子功能相关,主要参与代谢过程和氧化还原途径。

表 2 CAZymes 家族的 PCWDEs 注释

Table 2 PCWDEs annotation of the CAZymes family

基因家族 Gene family	底物 Substrate	基因家族 Gene family	底物 Substrate
PL40	石莼多糖 Ulvan	GH74	半纤维素 Hemicellulose
GH13_22	淀粉 Starch	GH95	半纤维素 Hemicellulose
GH13_32	淀粉 Starch	GH29	半纤维素 Hemicellulose
GH13_25	淀粉 Starch	GH115	半纤维素 Hemicellulose
GH13_8	淀粉 Starch	GH11	半纤维素 Hemicellulose
CBM48	淀粉 Starch	CE3	半纤维素 Hemicellulose
GH13_3	淀粉 Starch	CBM10	半纤维素 Hemicellulose
GH13_28	淀粉 Starch	CE5	角质 Cutin
CE8	果胶 Pectin	GH131	纤维素 Cellulose
GH105	果胶 Pectin	AA9	裂解多糖单加氧酶 LPMOs
PL3	果胶 Pectin	GH7	纤维素 Cellulose
PL3_2	果胶 Pectin	CBM63	纤维素 Cellulose
PL1_4	果胶 Pectin	GH5_41	纤维素 Cellulose
PL9_4	果胶 Pectin	GH12	纤维素 Cellulose
PL9_3	果胶 Pectin	GH5_5	纤维素 Cellulose
PL9_2	果胶 Pectin	GH9	纤维素 Cellulose
PL9_1	果胶 Pectin	CBM1	纤维素 Cellulose
PL9	果胶 Pectin	GH1	纤维素 Cellulose
PL4_5	果胶 Pectin	GH6	纤维素 Cellulose
PL4_4	果胶 Pectin	GH26	纤维素 Cellulose
PL4_3	果胶 Pectin	GH45	纤维素 Cellulose
PL4_2	果胶 Pectin	GH51	植物细胞壁 PCW
PL4_1	果胶 Pectin	GH53	植物细胞壁 PCW
PL4	果胶 Pectin	GH54	植物细胞壁 PCW
PL26	果胶 Pectin	GH61	植物细胞壁 PCW
AA3_2	植物细胞壁 PCW	GH62	植物细胞壁 PCW
AA3_3	植物细胞壁 PCW	GH67	植物细胞壁 PCW
AA3_1	植物细胞壁 PCW	GH78	植物细胞壁 PCW
AA3_4	植物细胞壁 PCW	GH88	植物细胞壁 PCW
AA3	植物细胞壁 PCW	GH93	植物细胞壁 PCW

表2（续）

基因家族 Gene family	底物 Substrate	基因家族 Gene family	底物 Substrate
AA7	植物细胞壁 PCW	GH28	植物细胞壁 PCW
AA6	植物细胞壁 PCW	GH94	植物细胞壁 PCW
AA4	植物细胞壁 PCW	GH31	植物细胞壁 PCW
AA8	植物细胞壁 PCW	PL1	植物细胞壁 PCW
AA5_2	植物细胞壁 PCW	PL11	植物细胞壁 PCW
AA5	植物细胞壁 PCW	GH36	植物细胞壁 PCW
CE16	半纤维素 Hemicellulose	GH16_2	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose
AA14	裂解多糖单加氧酶 LPMOs	GH10	半纤维素 Hemicellulose
AA15	裂解多糖单加氧酶 LPMOs	GH3	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose
AA16	裂解多糖单加氧酶 LPMOs	GH2	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose
AA1_1	木质素 Lignin	GH27	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose
AA1_3	木质素 Lignin	GH43_6	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose
AA5_1	木质素 Lignin	GH5_7	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose
AA2	木质素 Lignin	GH43_24	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose
AA1_2	木质素 Lignin	GH35	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose
AA1	木质素 Lignin	GH39	植物细胞壁 PCW
GH32	蔗糖 Sucrose	GH43	植物细胞壁 PCW
CE1	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose	GH16_1	半纤维素 Hemicellulose/ 纤维素 Cellulose

2.3 小麦叶锈菌 Pt15 特异性 PCWDEs 的理化性质及 motif 分析

小麦叶锈菌 Pt15 的特异性细胞壁降解酶分为 2 个部分：未被注释到任何直系同源基因簇的小麦叶锈菌 PCWDEs 基因和仅含有小麦叶锈菌 PCWDEs 基因的同源基因簇（图 4）。根据 CAZymes 家族对 19 个未被注释到任何直系同源基因簇的 *Pt* 特异性 PCWDEs 命名（表 3）。对其一级结构进行分析发

现，大部分 PCWDEs 为亲水性蛋白，只有 PtCE1 和 PtCE2 预测为疏水性蛋白。8 个 PCWDEs 蛋白不稳定（不稳定系数 >40），11 个较稳定。利用 SignalP 6.0 预测信号肽和 TMHMM 2.0 预测跨膜结构域以筛选经典分泌蛋白，保留含有信号肽且不含跨膜结构域的蛋白。结果显示，只有 PtAA4 和 PtPL1 被预测为经典分泌蛋白。随后对非经典分泌蛋白进行了预测，去除掉 SecretomeP 2.0 中“NN-score”<

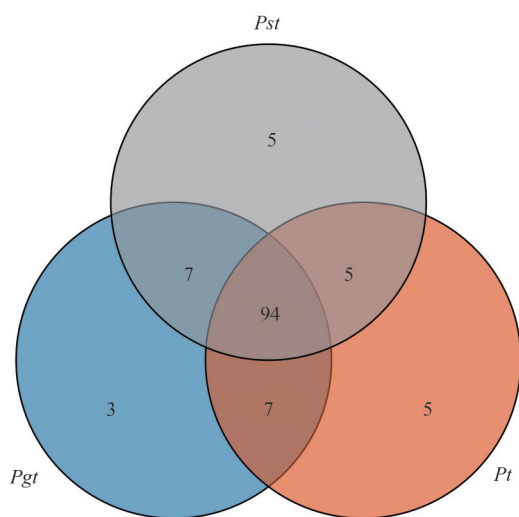


图 4 小麦锈菌 PCWDEs 直系同源基因簇组成

Fig. 4 Composition of PCWDEs orthologous gene clusters of wheat rust fungi

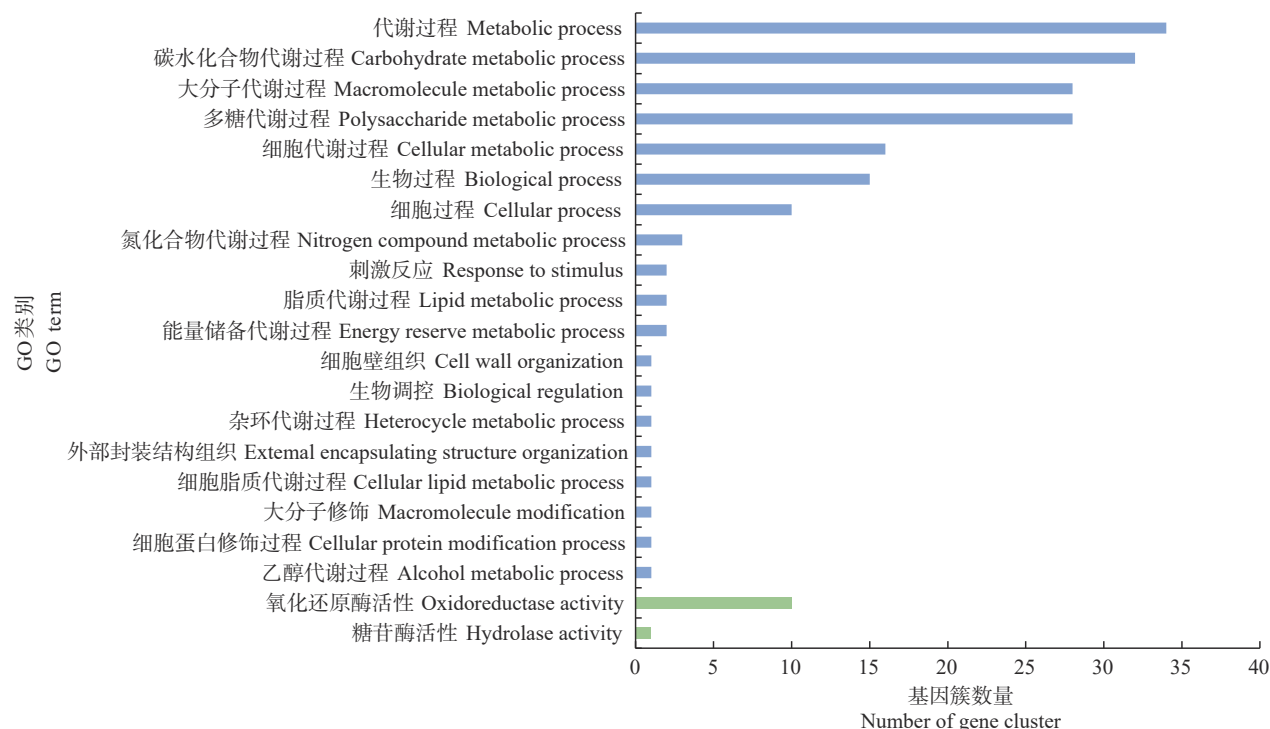
0.5 的结果,除 PtAA5、PtAA6 和 PtGH4 外其他均被预测为非经典分泌蛋白。motif 和结构域预测显示 *Pt* 特异性 PCWDEs 没有形成明显的聚类,且数量和类型不同,说明此类基因是多样化的(图 6)。

2.4 小麦叶锈菌特异性 PCWDEs 表达模式分析

由图 7 可知,所有的未被分配到直系同源基因簇的 *Pt* 特异性 PCWDEs 在小麦-叶锈菌亲和/非亲和互作过程中均受到诱导表达。*PtCE4*、*PtGH2*、*PtGH1*、*PtCE5*、*PtCE1*、*PtCE3* 和 *PtAA2* 的表达水平在亲和互作 12 h 上调,非亲和互作 6 h 上调,其中 *PtGH1*、*PtCE5*、*PtCE1*、*PtCE3* 和 *PtAA2* 在 72 h 再次上调表达。*PtAA1* 在亲和互作中 6 h 开始持续上调表达,在非亲和互作则表现为 48 h 到达峰值后下调表达。*PtAA3* 在亲和表达中 72 h 上调,但在非亲和互作中则提前到 48 h 上调。*PtAA4* 在亲和互作过程中持续下调表达,在非亲和互作 72 h 达到峰值。*PtPL1* 在亲和互作中 12 h 上调,非亲和互作中则持续下调,*PtPL2* 恰好相反。*PtGH3* 在亲和互作 48 h 上调,在非亲和互作 12 h 上调。*PtCE2* 和 *PtCE7* 在亲和/非亲和互作过程中具有相似的表达趋势。

2.5 小麦叶锈菌 CBM63 家族

利用 CAZy 数据库查询 CBM63 家族注释,*Pt* 的 7 个 CBM63 家族基因有 4 个符合扩展蛋白的 C 端



蓝色代表的 GO 类别为生物过程,绿色代表的 GO 类别为分子功能。

The GO categories represented in blue are biological processes and the GO categories represented in green are molecular functions.

图 5 小麦锈菌保守性 PCWDEs 直系同源基因簇的 GO 注释

Fig. 5 GO annotation of conserved PCWDEs orthologous gene clusters of wheat rust fungi

表3 小麦叶锈菌特异性PCWDEs基因家族蛋白的理化性质
Table 3 Physicochemical properties of specific PCWDEs of *Pt*

基因 Gene	ID	基因家族 Gene family	平均亲水性 Mean hydrophilicity	不稳定系数 Coefficient of instability	信号肽 Signal peptide	非经典分泌蛋白 Non-classical secreted protein
<i>PtAA1</i>	PtA15_12A23	AA	-0.214	24.91	NO	YES
<i>PtAA2</i>	PtA15_5A760	AA	-0.169	34.42	NO	YES
<i>PtAA3</i>	PtA15_5A243	AA	-0.228	38.77	NO	YES
<i>PtAA4</i>	PtA15_4A276	AA	-0.143	40.80	YES	-
<i>PtAA5</i>	PtA15_5A438	AA	-0.275	41.35	NO	NO
<i>PtAA6</i>	PtA15_11A104	AA	-0.515	48.37	NO	NO
<i>PtCE1</i>	PtA15_11A424	CE	0.187	55.27	NO	YES
<i>PtCE2</i>	PtA15_13A38	CE	0.145	53.54	NO	YES
<i>PtCE3</i>	PtA15_14A354	CE	-0.451	43.49	NO	YES
<i>PtCE4</i>	PtA15_18A259	CE	-0.158	45.23	NO	YES
<i>PtCE5</i>	PtA15_2A9	CE	-0.335	40.72	NO	YES
<i>PtCE6</i>	PtA15_8A641	CE	-0.288	45.55	NO	YES
<i>PtCE7</i>	PtA15_12A163	CE	-0.150	24.03	NO	YES
<i>PtGH1</i>	PtA15_6A627	GH	-0.289	66.13	NO	YES
<i>PtGH2</i>	PtA15_2A565	GH	-0.401	35.10	NO	YES
<i>PtGH3</i>	PtA15_6A701	GH	-0.388	36.88	NO	YES
<i>PtGH4</i>	PtA15_2A5	GH	-0.456	34.71	NO	NO
<i>PtPL1</i>	PtA15_6A726	PL	-0.360	39.67	YES	-
<i>PtPL2</i>	PtA15_7A476	PL	-0.405	41.34	NO	YES

DPBB 和 N 端 CBM63 双结构域(图 8(a))。叶锈菌与木霉、链霉等 6 种微生物及水稻、拟南芥等 3 种植物扩展蛋白的进化关系表明,叶锈菌 CBM63 家族基因和镰刀菌的扩展蛋白 FSUBG_753 存在较高同源性,说明扩展蛋白序列具有保守性(图 8(b))。对这些类扩展蛋白成员的结构预测发现,与已知的蓝状菌扩展蛋白 TlEXLX1 具有相似的三级结构(图 8(c))。

2.6 小麦叶锈菌 CBM63 家族表达模式分析

由图 9 可知,*PtCBM1* 在亲和互作过程中 6 h 表达受到抑制,12 h 表达上调,24 h 达到峰值后表达下调;非亲和互作过程中表现为 6 h 上调,12 h 下调后在 24 h 出现上调,48 h 又下调的表达趋势,在 72 h 再

次上调达到峰值。*PtCBM2* 在亲和及非亲和互作中均表现出 24 h 前表达下调和 48 h 后表达上调(图 10)。*PtCBM3* 的表达在亲和互作及非亲和互作的前 72 h 均受到抑制(图 11)。*PtCBM4* 在亲和及非亲和互作 6 和 12 h 均显著被抑制,24 h 表达又上调(图 12)。

3 讨 论

碳水化合物活性酶(CAzymes)是参与碳水化合物组装、修饰或解构的酶^[34]。CAzymes 的组成对于真菌的竞争力、生长和繁殖都非常重要^[35]。大多数植物病原真菌通过分泌 PCWDEs 打破和穿透细胞壁^[36],其中包括果胶酶、多聚半乳糖醛酸酶、葡聚

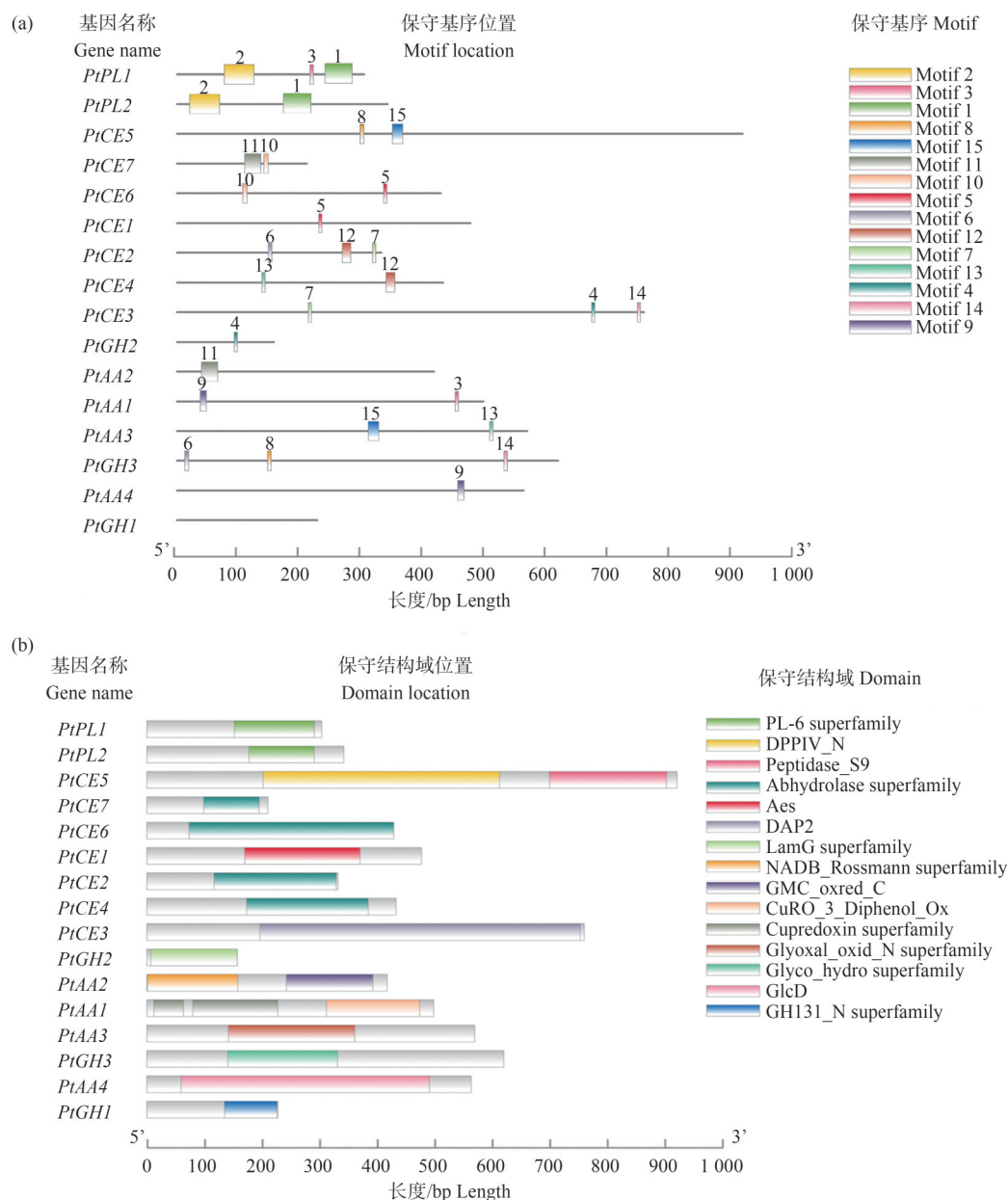


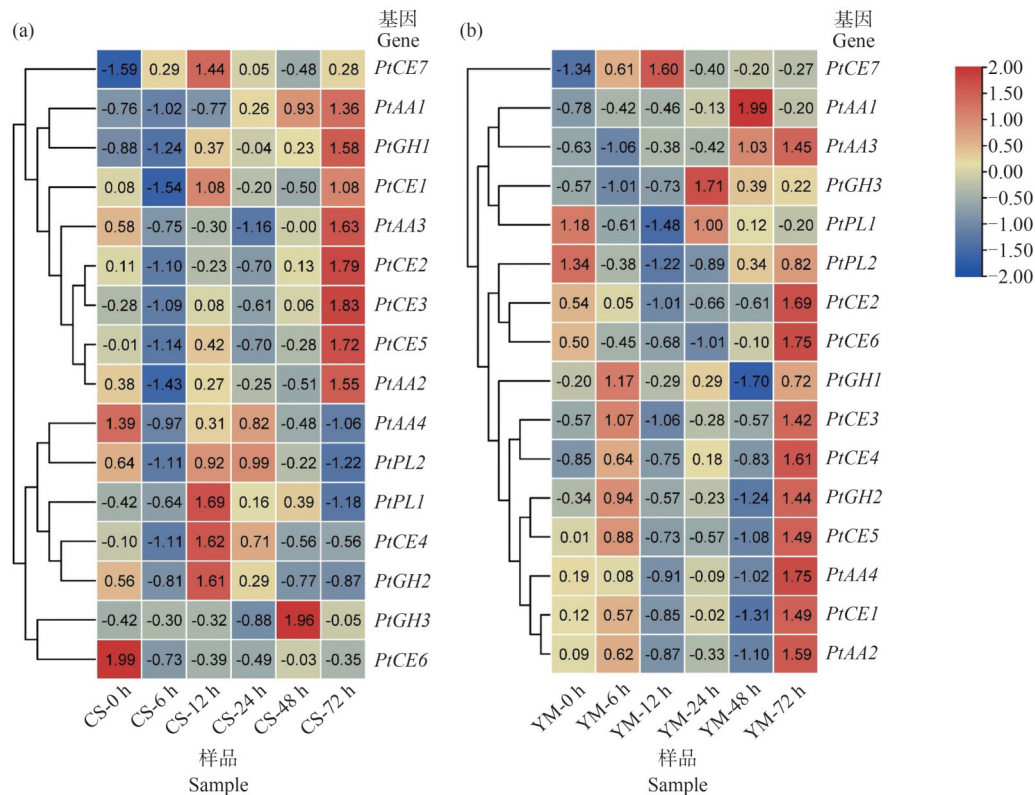
图 6 小麦叶锈菌特异性 PCWDEs 的 motif(a) 和结构域(b) 分析

Fig. 6 Motif (a) and domain (b) analysis of specific PCWDEs of *Pt*

糖酶、纤维素酶和木葡聚糖酶等^[37-38]。本研究对小麦 3 种锈菌 CAZymes 和 PCWDEs 进行了预测及表达模式分析,小麦叶锈菌、条锈菌和秆锈菌分别编码 355、322 和 345 个 CAZymes 家族成员基因及 160、153 和 158 个 PCWDEs 成员基因。小麦 3 种锈菌共含 75 个保守 CAZymes 基因家族和 94 个 PCWDEs 家族直系同源基因簇。利用生物信息学对 3 种大豆锈菌基因组进行注释,其中约含有 2% 的 CAZymes^[39],在小麦锈菌也存在类似结果,但氧化还原酶的数量存在较大差别,这可能与它们的寄

主差异有关^[40]。

李闯等^[41]研究表明,小麦 3 种锈菌的 CAZymes 中拥有庞大的分泌蛋白数量,CAZymes 分泌蛋白可能在锈菌致病过程中作为潜在毒力因子发挥重要作用。小麦锈菌的 PCWDEs 也被证明在小麦-病原菌互作过程中起到一定作用^[42],可能参与植物基础免疫(PTI, Pattern-triggered immunity)的互作调控过程。在小麦感染 *Pgt* 和 *Pst* 过程中,几丁质酶(GH18 家族)、转化酶、内切-1,4- β -葡聚糖酶(来自 GH5)和内切- β -甘露聚糖酶(来自 GH5)转录水平



图中数字使用对数转换 $\log_2(\text{counts}+1)$ 方法归一化处理结果。CS 为小麦品种‘中国春’(‘Chinese Spring’, CS-Pt15 亲和互作), YM 为小麦品种‘云麦 34’(‘Yunmai 34’, YM34-Pt15 非亲和互作)。下同。

The numbers in the figure are normalized using the $\log_2(\text{counts}+1)$ formula. CS is the wheat variety ‘Chinese Spring’ (CS-Pt15 compatible interaction) and YM is the wheat variety ‘Yunmai 34’ (YM34-Pt15 incompatible interaction). The same below.

图 7 小麦叶锈菌 Pt15 特异性 PCWDEs 在 CS-Pt15 亲和互作 (a) 与 YM34-Pt15 非亲和互作 (b) 组合中的表达模式

Fig. 7 Expression patterns of leaf rust fungi Pt15 specific PCWDEs in compatible (a) and incompatible (b) combinations

显著上调^[43-44]。在 *Pt* 侵染过程中,外切和内切葡聚糖酶,酯酶和果胶酶活性显著增加,表明这些酶在 *Pt* 感染期间协同降解植物细胞壁^[45]。本研究中,*Pst* 和 *Pgt* 中 GH5 数量最多,而在 *Pt* 中 CE1 数量最多,其次是 GH5;GH5 家族成员丰富及在侵染过程中转录水平显著上调表明,其可能在小麦锈菌侵染过程中发挥重要作用。Yang 等^[46] 研究表明,腐霉菌 GH5 家族成员 *Pp07886* 参与了病原菌的早期感染和寄主的先天免疫诱导。

本研究从未被注释到同源基因簇的叶锈菌 PCWDEs 挑选出了具有分泌性的基因。利用 qRT-PCR 检测 16 个叶锈菌的 PCWDEs 表达模式后发现,它们在亲和/非亲和互作中均被诱导表达。10 个小麦叶锈菌 Pt15 特异性细胞壁降解酶在亲和、非亲和互作期间都表现出了定殖期间的表达量上升,3 个基因在亲和/非亲和互作期间表达模式相反。相比于亲和互作过程,大多数 PCWDEs 在非亲和互作期

间表现为更早的表达响应,说明其在叶锈菌 Pt15 侵染小麦前期发挥重要作用,且 PCWDEs 可能在锈菌侵染抗病材料的过程中起到关键作用。在非亲和互作过程中,更多的 PCWDEs 在 72 h 达到峰值,其可能与抗病寄主防御反应有关。在小麦条锈菌和秆锈菌的 PCWDEs 也出现了类似的表达模式,大部分基因在前期表达量较低,这可能与它们活体寄生的生活类型有关,为了避免对寄主造成损伤,72 h 上调可能是为了迅速在寄主体内增殖^[47]。*PtPL1*、*PtPL2* 的底物为果胶,*PtAA1* 的底物为木质素,在本研究中 *PtPL1*、*PtPL2* 比 *PtAA1* 更早上调表达,这可能与它们的作用位点不同有关。但这些基因的作用机制尚不明确,还需进一步试验分析其在小麦-*Pt* 互作过程中发挥的生物学功能及调控机制。

在 *Pt* 基因组中鉴定出了 4 个被注释为 PCWDEs 的 CBM63 成员,该家族是具有双结构域的扩展蛋白(expansins, EXPs)的 C 端结构域^[48]。扩

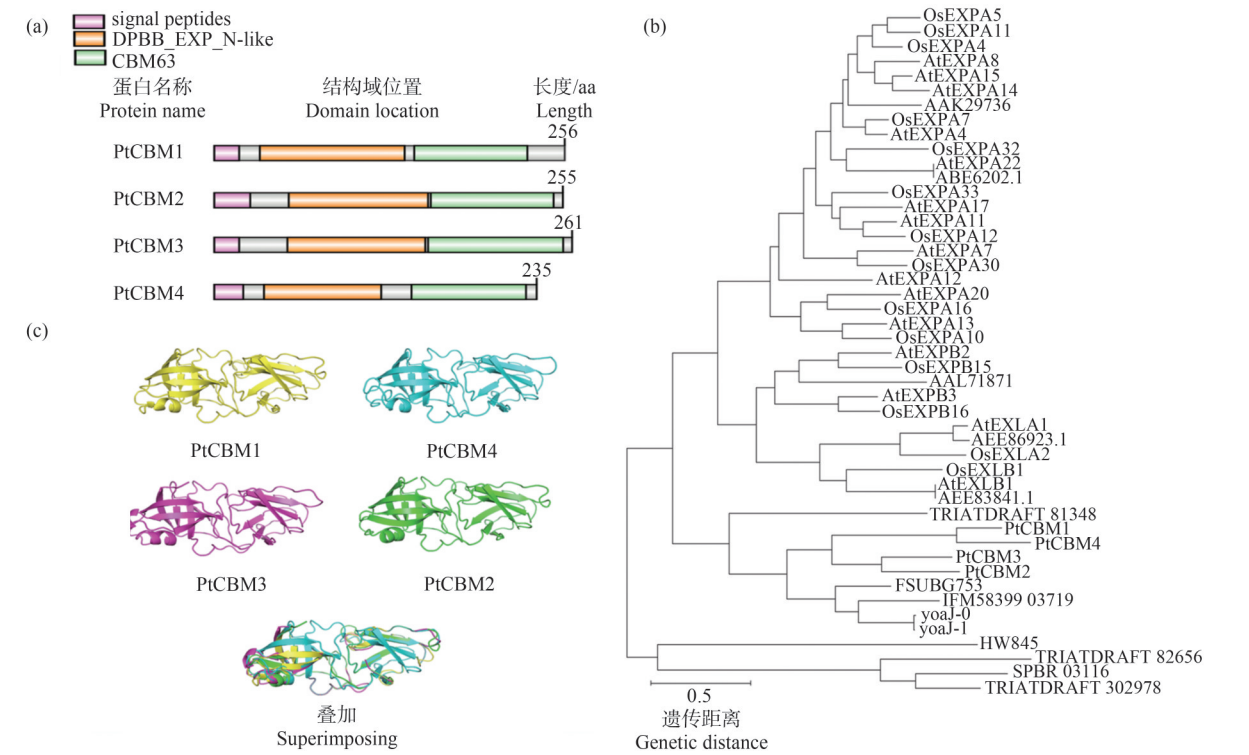


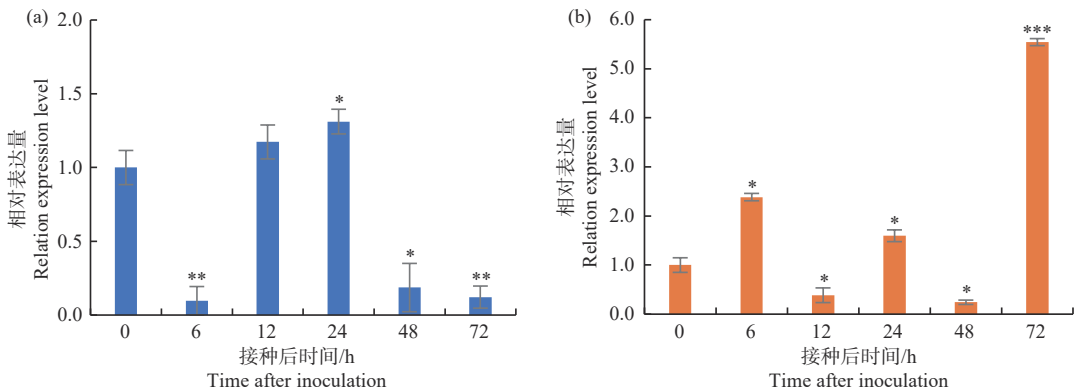
图 8 小麦叶锈菌特异性细胞壁降解酶 CBM63 家族结构域预测 (a)、CBM63 家族进化树 (b) 及小麦叶锈菌 CBM63 家族成员蛋白 3D 模型 (c)

Fig. 8 Prediction of CBM63 family domain of *Pt* (a), CBM63 family evolutionary tree (b) and 3D model of CBM63 family member proteins of *Pt* (c)

表 4 小麦叶锈菌 CBM63 家族成员蛋白的理化性质

Table 4 Primary structure prediction of proteins from CBM63 family of *Pt*

基因 Gene	氨基酸数目 Amino acid number	pI	相对分子质量 Relative molecular mass	不稳定系数 Coefficient of instability	平均亲水性 Mean hydrophilicity
<i>PtCBM1</i>	256	9.18	27 519.38	34.60	-0.165
<i>PtCBM2</i>	235	8.80	25 674.63	49.64	-0.059
<i>PtCBM3</i>	261	8.04	28 159.64	32.57	-0.382
<i>PtCBM4</i>	255	8.72	27 290.92	35.13	-0.245



显著性分析 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)。下同。

Significance analysis (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$). The same below.

图 9 *PtCBM1* 在 CS 亲和 (a) 以及 YM34 非亲和 (b) 组合中的表达

Fig. 9 *PtCBM1* expressions in CS compatible (a) and YM34 incompatible (b) combinations

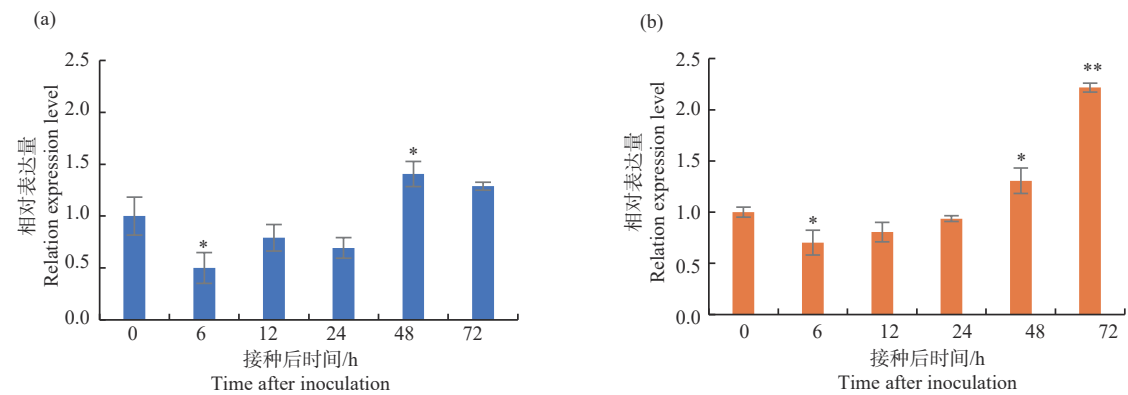


图 10 *PtCBM2* 在 CS 亲和 (a) 以及 YM34 非亲和 (b) 组合中的表达

Fig. 10 *PtCBM2* expressions in CS compatible (a) and YM34 incompatible (b) combinations

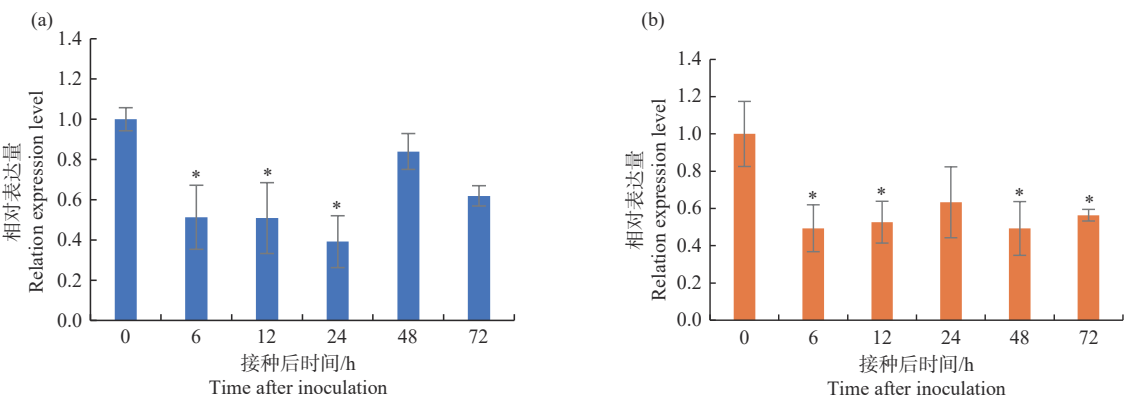


图 11 *PtCBM3* 在 CS 亲和 (a) 以及 YM34 非亲和 (b) 组合中的表达

Fig. 11 *PtCBM3* expressions in CS compatible (a) and YM34 incompatible (b) combinations

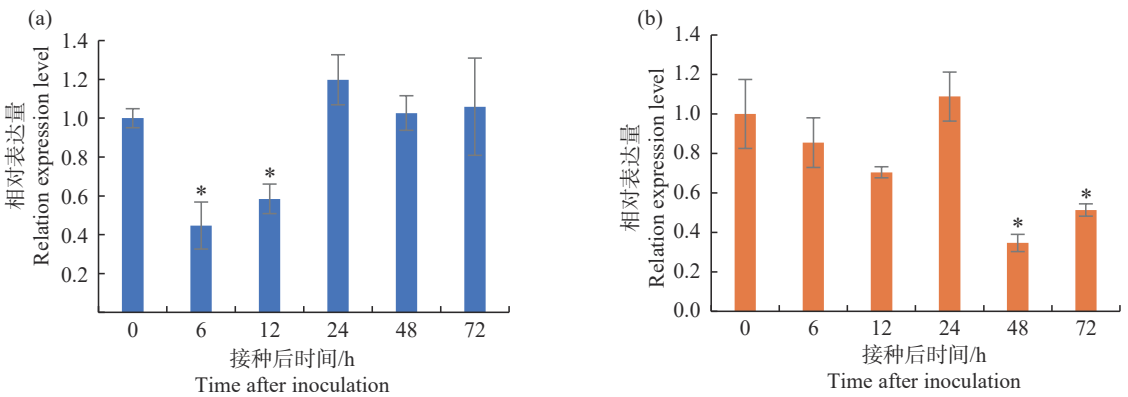


图 12 *PtCBM4* 在 CS 亲和 (a) 以及 YM34 非亲和 (b) 组合中的表达

Fig. 12 *PtCBM4* expressions in CS compatible (a) and YM34 incompatible (b) combinations

展蛋白是在许多植物发育和生理过程中起到修饰植物细胞壁作用的蛋白,但也可在与寄主互作时由病原菌产生^[49],有研究推测微生物中的扩展蛋白可能是通过基因水平转移从植物中获得的^[50-51]。微生物的扩展蛋白活性比植物的低,但微生物的扩展蛋

白可以影响其对寄主的定殖^[52-53]。本研究鉴定的 4 种类扩展蛋白均以 100 的置信度比对到了扩展蛋白 T1EXLX1^[54],表明它们可能具有类似的协同纤维素降解功能,在降解纤维素突破侵染屏障中发挥重要作用,其在致病方面的作用尚需进一步研究。

4 结 论

小麦叶锈菌、条锈菌和秆锈菌分别编码355、322和345个CAZymes家族成员基因以及160、153和158个PCWDEs成员基因。小麦3种锈菌共含86个保守CAZymes基因家族和94个PCWDEs家族直系同源基因簇。叶锈菌特异性PCWDEs基因在亲和/非亲和互作中均受到不同程度的诱导表达,但在非亲和互作中侵染更早期受到诱导上调表达。叶锈菌特异性PCWDEs基因簇中有4个PCWDEs被鉴定为类扩展蛋白,在侵染过程中受到诱导表达,显示其可能在降解纤维素突破小麦防御屏障中发挥重要作用。

参考文献 References

- [1] Zhao J, Kang Z S. Fighting wheat rusts in China: A look back and into the future [J/OL]. *Phytopathology Research*, (2023-02-14). DOI: 10.1186/s42483-023-00159-z
- [2] Plotnikova L. Influence of the surface features and physiological reactions of non-host species on the development of cellular structures of rust fungi [J]. *Tsitologiya*, 2008, 50(5): 439-446
- [3] Zhao Y, Zhu X B, Chen X W, Zhou J M. From plant immunity to crop disease resistance[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2022, 49(8): 693-703
- [4] Wang F, Shen S S, Cui Z C, Yuan S T, Qu P, Jia H, Meng L S, Hao X Y, Liu D Q, Ma L S, Wang H Y. *Puccinia triticina* effector protein Pt_21 interacts with wheat thaumatin-like protein TaTLP1 to inhibit its antifungal activity and suppress wheat apoplast immunity[J]. *The Crop Journal*, 2023, 11(5): 1431-1440
- [5] Qi T, Zhu X G, Tan C C, Liu P, Guo J X, Kang Z S, Guo J. Host-induced gene silencing of an important pathogenicity factor *PsCPK1* in *Puccinia striiformis* f sp *tritici* enhances resistance of wheat to stripe rust [J/OL]. *Plant Biotechnology Journal*, (2017-10-23). DOI: 10.1111/pbi.12829
- [6] Wang N, Tang C L, Fan X, He M Y, Gan P F, Zhang S, Hu Z Y, Wang X D, Yan T, Shu W X, Yu L G, Zhao J R, He J N, Li L L, Wang J F, Huang X L, Huang L L, Zhou J M, Kang Z S, Wang X J. Inactivation of a wheat protein kinase gene confers broad-spectrum resistance to rust fungi[J]. *Cell*, 2022, 185(16): 2961-2974
- [7] Zhong R Q, Ye Z H. Regulation of cell wall biosynthesis[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, 10(6): 564-572
- [8] Rafiei V, Véléz H, Tzelepis G. The role of glycoside hydrolases in phytopathogenic fungi and oomycetes virulence [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, (2021-08-28). DOI: 10.3390/ijms22179359
- [9] Kubicek C P, Starr T L, Glass N L. Plant cell wall-degrading enzymes and their secretion in plant-pathogenic fungi [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2014, 52: 427-451
- [10] Annis S L, Goodwin P H. Recent advances in the molecular genetics of plant cell wall-degrading enzymes produced by plant pathogenic fungi[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1997, 103(1): 1-14
- [11] Cantarel B L, Coutinho P M, Rancurel C, Bernard T, Lombard V, Henrissat B. The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): An expert resource for glycogenomics [J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37(1): 233-238
- [12] Tundo S, Paccanaro M C, Bigini V, Savatin D V, Faoro F, Favaron F, Sella L. The *Fusarium graminearum* FGSG_03624 xylanase enhances plant immunity and increases resistance against bacterial and fungal pathogens [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(19):1-16
- [13] Xu M, Gao X N, Chen J L, Yin Z Y, Feng H, Huang L L. The feruloyl esterase genes are required for full pathogenicity of the apple tree canker pathogen *Valsa mali* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2018, 19(6): 1353-1363
- [14] Yang C, Liu R, Pang J H, Ren B, Zhou H B, Wang G, Wang E T, Liu J. Poaceae-specific cell wall-derived oligosaccharides activate plant immunity via *oscerk1* during *magnaporthe oryzae* infection in rice[J/OL]. *Nature Communications*, (2021-04-12). DOI: 10.1038/s41467-021-22456-x
- [15] Sabbadin F, Urresti S, Henrissat B, Avrova A O, Welsh L R J, Lindley P J, Csukai M, Squires J N, Walton P H, Davies G J, Bruce N C, Whisson S C, McQueen-Mason S J. Secreted pectin monooxygenases drive plant infection by pathogenic oomycetes [J]. *Science*, 2021, 373(6556): 774-779
- [16] Ökmen B, Jaeger E, Schilling L, Finke N, Klemd A, Lee Y J, Wemhöner R, Pauly M, Neumann U, Doehlemann G. A conserved enzyme of smut fungi facilitates cell-to-cell extension in the plant bundle sheath[J/OL]. *Nature Communications*, (2022-10-12). DOI: 10.1038/s41467-022-33815-7
- [17] Xia C J, Huang L, Huang J, Zhang H, Huang Y, Benhamed M, Wang M N, Chen X M, Zhang M, Liu T G, Chen W Q. Folding features and dynamics of 3D genome architecture in plant fungal pathogens[J/OL]. *Microbiology Spectrum*, (2022-10-17). DOI: https://doi.org/10.1128/spectrum.02608-22
- [18] Li F, Upadhyaya N M, Sperschneider J, Matny O, Nguyen-Phuc H, Mago R, Raley C, Miller M E, Silverstein K A T, Henningsen E, Hirsch C D, Visser B, Pretorius Z A, Steffenson B J, Schwessinger B, Dodds P N, Figueroa M. Emergence of the Ug99 lineage of the wheat stem rust pathogen through somatic hybridisation[J/OL]. *Nature Communications*, (2019-11-07). DOI: 10.1038/s41467-019-12927-7
- [19] Li C, Qiao L H, Lu Y N, Xing G Z, Wang X D, Zhang G Y, Qian H M, Shen Y L, Zhang Y B, Yao W, Cheng K, Ma Z L, Liu N, Wang D W, Zheng W M. Gapless genome assembly of *Puccinia triticina* provides insights into chromosome evolution in Pucciniales[J/OL]. *Microbiology Spectrum*, (2023-02-06). DOI: 10.1128/spectrum.02828-22
- [20] Zhang H, Yohe T, Huang L, Entwistle S, Wu P Z, Yang Z L, Busk P K, Xu Y, Yin Y B. dbCAN2: A meta server for automated carbohydrate-active enzyme annotation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(1): 95-101
- [21] Chen C J, Chen H, Zhang Y, Thomas H R, Frank M H, He Y H, Xia R. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202
- [22] Xu L, Dong Z B, Fang L, Luo Y J, Wei Z Y, Guo H L, Zhang G Q, Gu Y Q, Coleman-Derr D, Xia Q Y, Wang Y. OrthoVenn2: A web server for whole-genome comparison and annotation of orthologous clusters across multiple species[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(1): 52-58
- [23] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021,

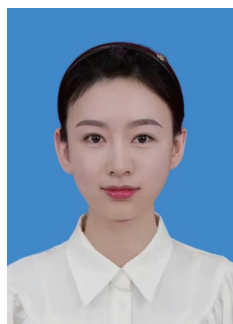
- 38(7): 3022-3027
- [24] Almagro Armenteros J J, Tsirigos K D, Sonderby C K, Petersen T N, Winther O, Brunak S, von Heijne G, Nielsen H. SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks [J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(4): 420-423
- [25] Kumari K, Sharma P K, Ma Y, Singh R P. Secretome of *Paenibacillus* sp S-12 provides an insight about its survival and possible pathogenicity [J]. *Folia Microbiologica*, 2023, 68(4): 559-569
- [26] Krogh A, Larsson B, von Heijne G, Sonnhammer E L L. Predicting transmembrane protein topology with a hidden markov model: Application to complete genomes [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2001, 305(3): 567-580
- [27] Bailey T L, Johnson J, Grant C E, Noble W S. The MEME Suite [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(1): 39-49
- [28] Yang M Z, Derbyshire M K, Yamashita R A, Marchler-Bauer A. NCBI's Conserved Domain Database and tools for protein domain analysis [J/OL]. *Current Protocols in Bioinformatics*, (2019-12-18). DOI: 10.1002/cpbi.90
- [29] Mariethoz J, Alocci D, Gastaldello A, Horlacher O, Gasteiger E, Rojas-Macias M, Karlsson N G, Packer N H, Lisacek F. Glycomics@ExpASY: Bridging the gap [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2018, 17(11): 2164-2176
- [30] Kelley L A, Mezulis S, Yates C M, Wass M N, Sternberg M J E. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis [J]. *Nature Protocols*, 2015, 10(6): 845-858
- [31] Xie Y B, Li H Q, Luo X T, Li H Y, Gao Q Y, Zhang L W Y, Teng Y Y, Zhao Q, Zuo Z X, Ren J. IBS 2.0: An upgraded illustrator for the visualization of biological sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(1): 420-426
- [32] Georgelis N, Yennawar N H, Cosgrove D J. Structural basis for entropy-driven cellulose binding by a type-A cellulose-binding module (CBM) and bacterial expansin [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(37): 14830-14835
- [33] Sampedro J, Cosgrove D J. The expansin superfamily [J/OL]. *Genome Biology*, (2005-06-12). DOI: 10.1186/gb-2005-6-12-242
- [34] Ameri R, Garcia J L, Derenfed A B, Pradel N, Neifar S, Mhiri S, Mezghanni M, Jaouadi N Z, Barriuso J, Bejar S. Genome sequence and Carbohydrate Active Enzymes (CAZymes) repertoire of the thermophilic *Caldicoprobacter algeriensis* TH7C1T [J/OL]. *Microbial Cell Factories*, (2022-05-21). DOI: 10.1186/s12934-022-01818-0
- [35] Barrett K, Jensen K, Meyer A S, Frisvad J C, Lange L. Fungal secretome profile categorization of CAZymes by function and family corresponds to fungal phylogeny and taxonomy: Example *Aspergillus* and *Penicillium* [J/OL]. *Scientific Reports*, (2020-03-20). DOI: 10.1038/s41598-020-61907-1
- [36] Malinovsky F G, Fangel J U, Willats W G T. The role of the cell wall in plant immunity [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2014-05-06). DOI: 10.3389/fpls.2014.00178
- [37] Nühse T S. Cell wall integrity signaling and innate immunity in plants [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2012-12-11). DOI: 10.3389/fpls.2012.00280
- [38] Niture S K, Kumar A R, Pant A. Role of glucose in production and repression of polygalacturonase and pectate lyase from phytopathogenic fungus *Fusarium moniliforme* NCIM 1276 [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2006, 22(9): 893-899
- [39] Gupta Y K, Marcelino-Guimarães F C, Lorrain C, Farmer A, Haridas S, Ferreira E G C, Lopes-Caitar V S, Oliveira L S, Morin E, Widdison S, Cameron C, Inoue Y, Thor K, Robinson K, Drula E, Henrissat B, LaButti K, Bini A M R, Paget E, Singan V, Daum C, Dorme C, van Hoek M, Janssen A, Chandat L, Tarriotte Y, Richardson J, Melo B V A, Wittenberg A H J, Schneiders H, Peyrard S, Zanardo L G, Holtman V C, Coulombier-Chauvel F, Link T I, Balmer D, Müller A N, Kind S, Bohnert S, Wirtz L, Chen C, Yan M, Ng V, Gautier P, Meyer M C, Voegele R T, Liu Q L, Grigoriev I V, Conrath U, Brommonschenkel S H, Loehrer M, Schaffrath U, Sirven C, Scalliet G, Duplessis S, van Esse H P. Major proliferation of transposable elements shaped the genome of the soybean rust pathogen *Phakopsora pachyrhizi* [J/OL]. *Nature Communications*, (2023-04-01). DOI: 10.1038/s41467-023-37551-4
- [40] Dort E N, Layne E, Feau N, Butyaev A, Henrissat B, Martin F M, Haridas S, Salamov A, Grigoriev I V, Blanchette M, Hamelin R C. Large-scale genomic analyses with machine learning uncover predictive patterns associated with fungal phytopathogenic lifestyles and traits [J/OL]. *Scientific Reports*, (2023-10-11). DOI: 10.1038/s41598-023-44005-w
- [41] 李闯, 刘娜, 王鑫, 许笑蒙, 申一林, 邢国珍, 康振生, 郑文明. 小麦锈菌碳水化合物酶类基因家族的鉴定与进化分析 [J]. 菌物学报, 2017, 36(9): 1222-1232
- Li C, Liu N, Wang X, Xu X M, Shen Y L, Xing G Z, Kang Z S, Zheng W M. Identification and evolutionary analysis of the carbohydrate-active enzymes of the wheat rust fungi [J]. *Mycosystema*, 2017, 36(9): 1222-1232 (in Chinese)
- [42] 周婷. 受条锈菌侵染后小麦叶片中细胞壁降解酶活性变化的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008
- Zhou T. Studies on the changes of cell wall regrading enzymes in wheat leaves infected by *Puccinia striiformis* f sp *tritici* [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2008 (in Chinese)
- [43] Duplessis S, Cuomo C A, Lin Y C, Aerts A, Tisserant E, Veneault-Fourrey C, Joly D L, Hacquard S, Amselem J, Cantarel B L, Chiu R, Coutinho P M, Feau N, Field M, Frey P, Gelhaye E, Goldberg J, Grabherr M G, Kodira C D, Kohler A, Kües U, Lindquist E A, Lucas S M, Mago R, Mauceli E, Morin E, Murat C, Pangilinan J L, Park R, Pearson M, Quesneville H, Rouhier N, Sakthikumar S, Salamov A A, Schmutz J, Selles B, Shapiro H, Tanguay P, Tuskan G A, Henrissat B, Van de Peer Y, Rouzé P, Ellis J G, Dodds P N, Schein J E, Zhong S B, Hamelin R C, Grigoriev I V, Szabo L J, Martin F. Obligate biotrophy features unraveled by the genomic analysis of rust fungi [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(22): 9166-9171
- [44] Voegele R T, Mendgen K W. Nutrient uptake in rust fungi: how sweet is parasitic life? [J]. *Euphytica*, 2011, 179(1): 41-55
- [45] Mafa M S, Visser B, Boshoff W H P, Kemp G, Alexander O, Castelyn H D. Flagging defensive roles of carbohydrate-active enzymes (CAZymes) and carbohydrates during *Puccinia triticina*-wheat interactions [J/OL]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, (2023-01-01). DOI: 10.1016/j.pmp.2023.101947
- [46] Yang H C, Weng P W, Liu Z D, Yan Y W, Tang L, Li J, Mao Y X, Mo Z L. Glycoside hydrolase family 5 gene *Pp07886* in *Pythium porphyrae*: Identification, characterization, expression pattern, and activation of the host immunity [J/OL]. *Algal Research*, (2023-04-01). DOI: 10.1016/j.algal.2023.103090
- [47] 裴国亮. 小麦条锈菌蛋白激酶及细胞壁降解酶基因家族的比较基因组学分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018
- Pei G L. Comparative genomics analysis on the gene families of kinases

- and cell wall degrade enzymes in *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2018 (in Chinese)
- [48] Cosgrove D J. Plant expansins: Diversity and interactions with plant cell walls[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, 25: 162-172
- [49] Narváez-Barragán D A, Tovar-Herrera O E, Guevara-García A, Serrano M, Martínez-Anaya C. Mechanisms of plant cell wall surveillance in response to pathogens, cell wall-derived ligands and the effect of expansins to infection resistance or susceptibility [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2022-08-13). DOI: 10.3389/fpls.2022.969343
- [50] Chase W R, Zhaxybayeva O, Rocha J, Cosgrove D J, Shapiro L R. Global cellulose biomass, horizontal gene transfers and domain fusions drive microbial expansin evolution [J]. *The New Phytologist*, 2020, 226(3): 921-938
- [51] Nikolaidis N, Doran N, Cosgrove D J. Plant expansins in bacteria and fungi: Evolution by horizontal gene transfer and independent domain fusion[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2014, 31(2): 376-386
- [52] Liu J, Peng H, Cui J K, Huang W K, Kong L A, Clarke J L, Jian H, Wang G L, Peng D L. Molecular characterization of a novel effector expansin-like protein from *Heterodera avenae* that induces cell death in *Nicotiana benthamiana* [J/OL]. *Scientific Reports*, (2016-11-03). DOI: 10.1038/srep35677
- [53] Pi L, Yin Z Y, Duan W W, Wang N, Zhang Y F, Wang J H, Dou D L. A G-type lectin receptor-like kinase regulates the perception of oomycete apoplastic expansin-like proteins [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64(1): 183-201
- [54] Ding S J, Liu X Q, Hakulinen N, Taherzadeh M J, Wang Y R, Wang Y, Qin X, Wang X L, Yao B, Luo H Y, Tu T. Boosting enzymatic degradation of cellulose using a fungal expansin: Structural insight into the pretreatment mechanism [J/OL]. *Bioresource Technology*, (2022-06-06) DOI: 10.1016/j.biortech.2022.127434

责任编辑: 吕晓梅



第一作者简介: 吴珂妍, 硕士研究生, 就读于河南农业大学生命科学学院细胞生物学专业。参与国家重点研发专项(2021YFD1401000)。



通讯作者简介: 刘娜, 博士, 副教授, 硕士生导师, 校拔尖人才, 就职于河南农业大学生命科学学院。现任河南省植物病理学会理事、河南农业大学生命科学学院遗传与细胞生物学系副主任。国际期刊 *Genes* 特约编辑、*Plant Disease* 等杂志的审稿人。2013年9月赴美, 在美国农业部谷类作物基因分析中心从事科研工作。目前主要从事作物抗逆相关基因的挖掘及功能解析、作物重要病原真菌的致病机理与分子互作、根际土壤微生物介导植物抗逆的分子调控网络等研究。主持或参与国家级、省部级等科研项目10余项, 在 *Molecular Plant*、*Trends in Plant Science*、*Microbiology Spectrum*、《中国农业大学学报》和《植物病理学报》等国内外主流期刊发表学术论文30余篇, 其中SCI论文25篇。获河南省自然科学优秀学术论文一等奖1项、河南省优秀科技论文二等奖1项, 参与获得四川省科学技术进步三等奖1项, 申请国家发明专利2项, 授权软件著作权1项。



通讯作者简介: 郑文明, 博士生导师, 二级教授, 河南农业大学生命科学学院副院长。主要从事作物病害和农业基因组学研究。现任省部共建小麦玉米作物学国家重点实验室团队带头人、河南省植物病理学会常务理事; 河南省科技创新杰出青年和杰出人才获得者。先后承担完成国家级、省部级项目20余项, 获省级科技成果一等奖2项、二等奖1项、三等奖4项。主持国家973课题和国家重点研发专项等。在 *Nature Communications*、*New Phytologist*、*Trends in Plant Science*、*Plant Cell & Environment* 等期刊发表第一或通讯作者学术论文, 获授权国家发明专利4项; 出版学术著作7部。