

编者按:随着林业在全球生态与经济中地位的不不断提升,以及林业科技的飞速发展与持续创新,林木病理学科科研工作者的队伍也随之壮大,并在林木与病原菌互作的分子机制研究上取得了丰硕的成果。作者总结了近年来林木抗病分子育种、病原菌致病机制以及林木与病原菌互作的分子机制研究方面取得的研究成果,梳理了林木与病原菌之间的分子互作机制研究进展,并提炼了一些新理论、新技术、新方向,对未来林木与病原菌互作的研究方向进行了深入的思考,提出了该领域的研究热点并预测了未来的发展趋势,为我国森林病理学的研究提供了重要参考。

林木与病原菌分子互作机制研究进展

田呈明,王笑连,余璐,韩珠

(北京林业大学林学院,省部共建森林培育与保护教育部重点实验室,北京 100083)

摘要:近年来林木与病原菌互作的分子机制研究成果丰硕,尤其是 HIGS 与 CRISPR/Cas9 等技术的发展,促进了林木病原菌关键致病基因的功能、病原菌基因组与转录组学、病原菌效应蛋白、林木抗病基因功能、林木抗病与生长平衡、林木抗病分子育种等多个层面研究的快速发展。从植物-病原菌分子互作的基本问题出发,综述了国内外林木-病原菌分子互作机制研究的进展与热点,包括病原菌侵入过程的信号网络及功能、病原菌活性氧解毒机制及效应蛋白的多种作用机制、林木与病原菌的组学研究进展、林木关键防御机制、林木与内生真菌及外生真菌互作机制等。基于目前的研究进展,对未来林木-病原菌分子互作的发展趋势进行了展望,“Zigzag”理论、“诱饵”假说这些新理论,高效的测序技术及分子操作等新技术,效应蛋白及免疫受体互作等新方向的出现也预示着林木-病原菌互作研究开始迈入新的阶段。

关键词:林木免疫;分子育种;分子互作;病原菌;效应蛋白

中图分类号:S76 文献标志码:A 开放科学(资源服务)标识码(OSID):
文章编号:1000-2006(2021)01-0001-12



A review on the studies of molecular interaction between forest trees and phytopathogens

TIAN Chengming, WANG Xiaolian, YU Lu, HAN Zhu

(The Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: In recent years, great achievements have been made on the study of the molecular interaction between forest trees and phytopathogens. Particularly, thanks to the novel technology including HIGS and CRISPR/Cas9, there are many breakthroughs towards the functional analysis of key virulence-related genes, pathogen genome and transcriptome analysis, pathogenic effector protein analysis, functional analysis of R gene in forest trees, the balance between disease resistance and growth and molecular breeding for disease control. This paper starts with the basic issue of molecular plant-pathogen interaction currently and reviews the current progress and hotspots of molecular interaction between forest trees and pathogens, including the signal network of pathogen invasion, the detoxification mechanism of reactive oxygen species and the multiple action mechanisms of effector proteins, the research progress of omics between trees and patho-

收稿日期 Received:2020-10-02 修回日期 Accepted:2020-12-29
基金项目:国家自然科学基金项目(32071767)。
第一作者:田呈明(Chengmt@bjfu.edu.cn),教授,负责论文撰写与修改,ORCID(0000-0002-3352-7664)。王笑连(675996957@qq.com),博士,负责论文文献整理。
引文格式:田呈明,王笑连,余璐,等.林木与病原菌分子互作机制研究进展[J].南京林业大学学报(自然科学版),2021,45(1):1-12.TIAN C M, WANG X L, YU L, et al. A review on the studies of molecular interaction between forest trees and phytopathogens [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2021, 45(1): 1-12. DOI: 10.12302/j.issn.1000-2006.202010001.

gens, the key defense mechanism of trees, the interaction mechanism between trees and endophytic fungi and exophytic fungi, and so on. Based on the current research progress, we prospect the future development trend of tree-pathogen molecular interaction. At the same time, the emergence of new theories such as the Zigzag model and Decoy hypothesis, new technologies such as efficient sequencing and molecular manipulation, and new research directions such as effector protein and immune receptor interaction indicate a whole new stage of forest trees and pathogen interactions.

Keywords: forest trees immunity; molecular breeding; molecular interaction; phytopathogen; effector

自植物出现在陆地上以来,微生物便作为重要的选择压力参与塑造植物的进化。对于植物-病原微生物来说,二者更是处于长期的“军备竞赛”状态,植物通过激活免疫系统来抑制和防卫病原菌,病原菌也不断发展出新的“武器”去反抑制或躲避植物的防卫反应。因此,植物-病原菌互相的选择压力也构成了所谓的植物-病原菌互作体系。基于基因对基因学说,早期的研究主要集中在植物抗病基因以及病原菌致病基因功能方面,不断揭示植物与病原菌互作过程中的关键分子及其信号通路,促进植物免疫与病原菌致病机理的研究越来越深入与清晰。进入21世纪以来,生物信息学及基因组学手段,VIGS/HIGS与CRISPR/Cas9等技术的不断革新和突破,为传统分子操作困难生物的互作研究提供了强大的工具,推进植物-病原菌互作的分子机制研究进入快速发展的黄金时期。与此同时,木本植物与病原菌的互作研究也逐渐发展起来,并不断有新的理论、新的方法和新的突破涌现。尤其从病原菌基因组学和转录组学分析、致病关键基因筛选与功能鉴定、效应蛋白作用机制、致病信号转导、次生代谢产物等方面揭示病原菌的致病机制,进而探索林木免疫受体作用机制、免疫信号转导、免疫与生长平衡机制、抗病基因的分离鉴定、RNAi(RNA interference)以及分子抗病育种等。笔者从植物-病原菌分子互作的现状出发,综述了国内外林木-病原菌分子互作机制研究的热点,并提出未来的发展趋势。

1 植物与病原菌互作研究的基本问题

植物与病原菌互作机制的研究非常广泛,尤其是真菌、细菌和卵菌等^[1-3]病原菌与寄主植物互作研究已发展出许多模型和理论,阐释了植物-微生物互作过程中,植物如何通过免疫受体识别病原微生物进而诱发寄主的抗病反应,以及病原微生物利用效应蛋白来抑制寄主免疫反应以成功侵染寄主的分子机制(图1),逐步形成了新的植物-病原“分子互作”的概念^[4]。

植物免疫机制研究的最终目的是应用于分子

抗病育种。激活植物的免疫系统主要通过模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)和抗病蛋白(resistance protein, R)等免疫受体完成。PRRs可直接识别病原菌分泌到胞外的病原相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)或质外体效应蛋白(apoplastic effector),进而激活病原相关分子模式触发式免疫(PAMPs triggered immunity, PTI)。最近研究发现PRRs可通过招募多种多样的共受体(coreceptor)来增强识别PAMPs的效率^[5-7]。PRRs激发的PTI作为植物第1层免疫防卫反应,其强度较低,因此植物为了能够更加准确调控PRRs或PRRs的共受体,通过释放免疫原多肽物质——植物细胞激素(phyto cytokines)来辅助调节免疫反应,从而使PTI反应更加精确^[8]。由此可见,虽然植物不具备脊椎动物的获得性免疫(adaptive immunity),但其存在着精确高效的先天免疫机制。例如,一些植物共生菌也会刺激宿主的第1层免疫反应,类似于病原菌触发的PTI免疫反应^[9]。当共生细菌存在时,植物会主动降低PRRs表达水平和MAMPs识别敏感度,从而使共生细菌达到适合的生存条件,使其充分发挥对宿主植物的有益作用^[10]。植物抗病蛋白主要通过识别胞内效应蛋白(cytoplasmic effector)来激活效应蛋白触发式免疫(effector triggered immunity, ETI)。70%的R蛋白都是受体类蛋白(nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat receptors, NLRs)。除了少部分NLRs可直接与效应蛋白结合来激活免疫反应,大量的NLRs通过感知效应蛋白诱导的空间变化(steric alteration)或寄主蛋白翻译后修饰来激活ETI免疫。不仅PRRs具有共受体蛋白,NLRs同样能招募共受体(helper NLRs, hNLRs)来帮助识别效应蛋白^[11-12],hNLRs还对下游抗病信号的传递起到关键作用^[13]。同时强力的活性氧迸发(reactive oxygen species burst)、胼胝体沉积(callose deposition)、超敏坏死(hyper-sensitive resistance, HR),以及抗病基因表达等免疫反应均需要PRRs与NLRs的共同激活才能完成^[14]。在应对病原菌侵入时,植物中PRRs与

NLRs 分化出相互协作的关系,未来如何更好地认识免疫受体将是植物抗病育种的重要一环。

植物免疫系统中关键抗病基因的克隆及其抗性机制的解析是抗病分子育种的重要基础。近年来已经有小麦抗条锈病 (*Puccinia striiformis*) 基因 *YrU 1*^[15]、玉米抗纹枯病 (*Rhizoctonia solani*) 基因 *ZmFBL 41*^[16]、小麦全生育期持久抗性的主效抗病基因 *Xa 4*、小麦主效抗赤霉病 (*Fusarium graminearum*) 基因 *Fhb 7*^[17]以及多病害抗病基因 *NPR1*^[18]等数百个抗病基因不断在各种作物中被成功克隆。同时,植物分子抗病育种技术的发展也迎来了许多新技术与突破。诸如根癌农杆菌介导的 Fast-TrACC (fast-treated agrobacterium coculture) 技术可快速获得稳定遗传的转基因植物^[19]。碳纳米管技术使得 RNA 可结合在纳米粒子上转入受体植物材料,从而利用 SiRNA 沉默目标基因^[14]。高深宽比碳纳米管 [high-aspect-ratio carbon nanotube (CNT) nanoparticles] 技术,可将目标 DNA 导入大范围的植物中去,大大消除了寄主限制^[20]。抗病育种领域虽利好消息不断,但仍面临广谱抗病基因抗性的持久性、抗性与产量之间的拮抗性制约。因此,除了寻找新的广谱抗病基因,协调植物生长、适应与抗病性的关系外,利用新型的转基因技术或者载体介导材料高效稳定地获取目标分子改造植株,是未来提高抗病育种快速性、简便性、革新性和灵活性的重要途径。

在病原菌中,由于效应蛋白既能被 R 蛋白识别触发植物免疫成为无毒基因 (avirulence gene),也能通过修饰躲避识别成为毒性基因 (virulence gene),使得效应蛋白成为病原菌致病的关键性武器和植物免疫的靶标。通常在获得微生物基因组或转录组后,使用生物信息学方法,根据效应蛋白的一般特征分析筛选获得候选效应蛋白,并通过试验手段加以证实^[21]。效应蛋白作用方式主要包括:①抑制或躲避植物 PTI 或 ETI。如 LysM 效应蛋白可通过结合几丁质寡糖来抑制几丁质触发的植物免疫^[22-23]。水稻白叶枯病菌 (*Xanthomonas oryzae*) 的 RXLR 效应蛋白采用失活同源物来躲避寄主葡聚糖酶抑制剂蛋白的识别从而躲避 PTI^[24]。②抑制 RNAi。病毒能通过产生病毒 RNA 沉默抑制剂 (viral suppressors of RNA silencing, VSRs) 来对抗植物的 RNA 沉默体系,细菌、真菌和卵菌也广泛利用效应蛋白来抑制寄主植物的 RNA 沉默体系以促进病原菌侵染^[25-28]。③操纵植物微生物群落。一些病原菌效应蛋白具有植物性毒素和抗菌活性,既影响宿主植物也干扰微生物群落^[29];另外一些效应蛋白高度特异,能通过靶向破坏植物相关进程,如通过局部养分剥夺,进而影响植物与有益微生物的正常互作关系;效应蛋白也可以招募微生物协同互作,以抵御竞争性微生物或直接帮助其定殖宿主植物^[30]。

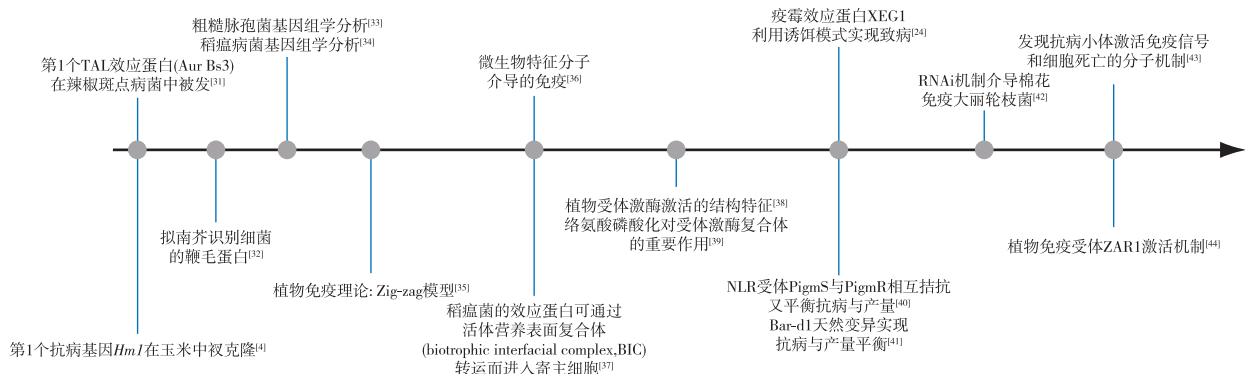


图 1 植物-病原菌互作研究各个时期的重要进展

Fig.1 The timeline of important advancements in the history of plant-pathogen interaction

2 林木与病原菌互作的分子机制

传统木本植物病害研究多集中在病原菌鉴定、检测,病害流行和防治等方面,其与病原菌之间相互作用的分子机制研究相对较少。然而,随着林木分子育种的不断发展,以及许多新兴技术的出现,

近年来有关林木与病原菌互作分子机制的研究也取得了较为显著的进步,为林木病害防控提供了理论支撑。林木-病原菌互作的理论基础以及发展模式与作物(模式植物)-病原菌互作体系十分类似,但是林木与病原菌的互作机制方面还有种种壁垒需要突破。

2.1 病原菌侵染寄主的分子机制

病原菌侵染寄主的分子机制研究以致病关键基因克隆及其功能调控网络为核心。随着许多林木病原菌,尤其是胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)、苹果腐烂病菌(*Valsa mali* 或 *Cytospora mali*)以及核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)等病原真菌的遗传转化体系的成功建立,利用基因敲除与回补、突变体生物学表型分析等手段探究病原菌侵染结构发育与致病力相关的关键基因得以实现,尤其以丝裂原激活蛋白激酶 MAPK (mitogen-activated protein kinase) 信号通路以及转录因子的功能研究较为深入。附着胞是许多病原真菌的直接侵入结构,与致病性密切相关。在杨树炭疽病菌(*C. gloeosporioides*)中,敲除致病相关 MAPK (pathogenic MAPKs) *Mk 1* 后突变体附着胞完全无法形成,导致致病力的丧失^[45]。杉木炭疽病菌(*C. gloeosporioides*)在敲除细胞壁完整性相关的 Slr2 MAPK 中 *Mps 1* 及其上游 *Mck 1* 与 *Mkk 1* 基因后,各突变体无法形成附着胞,导致致病力丧失^[46]。

病原菌可以通过侵染结构直接侵入寄主,也能够产生水解酶类破坏寄主的组织,以及产生毒素等次生代谢物攻击宿主植物。例如病原菌 *Alternaria alternata* 可以产生寄主专化性毒素——ACT 毒素改变寄主细胞膜通透性,引起电解质渗漏,也可作为效应蛋白诱导寄主发生脂质过氧化产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)^[47],并最终导致寄主细胞死亡^[48]。这些毒素相关基因的缺失突变株均不合成 ACT 毒素,且致病力明显下降^[49-51]。丁香假单胞杆菌猕猴桃致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, Psa)通过积累菜豆毒素以减少精氨酸的合成,并最终致猕猴桃叶片出现感病症状^[52-54]。

在林木病原菌中,对细胞壁水解酶组成的进化与功能研究取得了诸多进展。鳄梨炭疽病菌(*C. gloeosporioides*)果胶酸裂解酶基因 *pelB* 的缺失导致突变体果胶裂解酶和果胶酸裂解酶均显著减少,使其致病性降低^[55-56]。杨树腐烂病菌(*Cytospora chrysosperma*)的草酸合成相关基因可能通过改变草酸的合成来影响病原菌的致病性^[57]。苹果腐烂病菌(*V. mali*)在致病过程中通过分泌多种细胞壁水解酶来降解寄主细胞壁,促进其侵染。因此学者们在 *V. mali* 中开展了大量水解酶类的研究工作。例如,编码木聚糖酶基因 *Endo-β-1,4-xylanase VmXyl 1* 在 *V. mali* 致病过程中显著上调表达,并

且苹果树枝提取物也可以刺激 *VmXyl 1* 的表达,其敲除突变体中 *Endo-β-1,4-xylanase* 活性明显下降,致病性减弱^[58]。在敲除 *VmVeA* 与 *VmVelB* 后,突变体致病性明显下降。此外,突变体中果胶酶相关基因表达明显下降,但是纤维素酶、半纤维素酶与木质酶相关基因的表达并没有受影响。说明 *VmVeA* 与 *VmVelB* 特异地影响突变体果胶酶产生,从而调控其致病性^[59]。*VmPmk 1* 敲除后对于活性氧胁迫与细胞壁胁迫更加敏感,并且 *VmPmk 1* 在调控致病性中发挥关键作用,在侵染过程中,许多编码细胞壁降解酶基因的表达量在 *VmPmk 1* 突变体中明显下降,包括果胶酶(pectinase genes)、半纤维素酶(hemi-cellulase genes)与纤维素酶(cellulase genes)。利用免疫金沉淀进一步证实了 *VmPmk 1* 突变体在侵染苹果枝条时对果胶的降解能力出现明显下降,说明病原真菌细胞壁降解能力在其致病中的关键作用^[60]。*V. mali* 侵染能够造成韧皮部组织坏死水解,虽然木质部也被侵染,但是并没有腐烂,说明 *V. mali* 很可能针对不同部位分泌不同的细胞壁降解酶。在许多子囊病原菌中,铜离子自由基氧化酶家族是一类重要的木质素降解酶家族。但是在 *Valsa mali* 与 *V. pyri* 中没有出现此类家族基因,且编码纤维素酶与半纤维素酶的基因数量与作物病原菌如 *Magnaporthe oryzae*、*Colletotrichum graminicola* 相比出现明显地减少。因此,*V. mali* 与 *V. pyri* 虽然能够侵染到苹果和梨树的木质部,但是由于其缺乏相应的木质素降解酶,导致无法降解木质部。同时,由于主要从伤口侵入,其编码角质酶基因的数量相较于需要直接穿透叶片角质层病原菌也明显下降。*V. mali* 在侵染过程中编码果胶酶的基因出现了大量的上调表达^[61]。

2.2 病原菌活性氧解毒的分子机制

林木的过敏性坏死(hypersensitive response, HR)可有效抵御腐生菌及活体营养型病原菌定殖,但却有助于死体营养型真菌的生存。死体营养型病原真菌链格孢(*A. alternata*)进化出由多通路协作实现对寄主 ROS 的解毒机制,其中关键的组分包括转录因子 AaAP1,信号转导基因 AaHOG1、AaSKN7、AaHSK1,及 NADPH 氧化酶(Nox)、非核糖体多肽合成酶(NPS)与谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的多基因级联等。在外界刺激下,细胞质膜蛋白 Nox 产生的 H_2O_2 成为 ROS 解毒系统的核心。首先, Nox 可以通过诱导 YAP1 半胱氨酸残基之间二硫键的形成而引起其蛋白构相改变,进而激活 YAP1。另一方面 Nox 通过磷酸化激活

SKN7 及 SSK1 等转录因子,这些转录因子继而调控 HOG1。激活后的 YAP1 与 HOG1 在细胞核内调控大量 ROS 相关基因的表达,实现对寄主 ROS 的解毒。例如通过诱导铁载体的生物合成,将铁匮乏条件下摄取的足量铁贡献给抗氧化酶 CAT、SOD,进而通过酶解机制介导 ROS 解毒;或通过 GPx3 的激活诱导 GSH-Px 合成,酶解还原“毒性”ROS 为无毒羟基化合物。SKN7 可能通过与 YAP1 及其他因子互作继而参与非铁载体介导的铁吸收系统,调控 CAT、SOD 活性解毒 ROS,但 SKN7 和 SSK1 在 ROS 解毒方面不依赖 HSK1 调控,其具体的上游元件仍未知^[62-68]。此外,在杨树炭疽病菌中,转录因子 CgAp1 调控氧化胁迫应答以及侵入过程中 ROS 的清除,小 G 蛋白 CgCdc42 同样调控侵入过程中寄主 ROS 的清除,其均对致病性起了重要调控作用^[69-70]。在芒果炭疽菌 (*C. gloeosporioides*) 中,漆酶 LAC1 在其侵染芒果过程中表达量提高,促进了芒果胶孢炭疽菌的致病力^[71]。在黄栌枯萎病菌 (*V. dahliae*) 中,转录因子 VdAtf1、VdYap1 以及 VdSkn7 在活性氮胁迫响应中发挥不同的功能,并且对其微菌核的形成以及致病力发挥了关键作用^[72]。因此,研究林木病原菌对寄主 ROS 拮抗的相关基因功能是解析林木病原菌致病机制的重要途径之一。

2.3 病原菌效应蛋白

病原菌为了成功侵入并定殖于寄主植物,通过分泌效应蛋白作为入侵的“武器”。已知的林木病原菌效应蛋白的作用机制主要有:①躲避寄主免疫识别;②调控寄主植物基因的转录;③与寄主靶标蛋白互作;④对靶向寄主 R 基因进行免疫调节;⑤靶向操纵寄主激素信号;⑥靶向操纵宿主蛋白质。效应蛋白作为植物病理学研究热点之一,近年来在林木病原细菌、卵菌以及真菌中取得了一些重要进展。

近年来 Guillen 等^[73-74]通过杨树基因组、锈菌基因组和转录组的生物信息学分析预测了杨树-栅锈菌候选效应蛋白,并在细菌与卵菌侵染拟南芥过程中表达候选效应蛋白,通过观察其促进病原菌侵染与否来判断效应蛋白研究是否作为候选激活子。刘霞等^[75]构建了山田胶锈菌 (*Gymnosporangium yamadae*) 和亚洲胶锈菌 (*G. asiaticum*) 的吸器获取技术体系,并通过转录组测序预测了候选效应蛋白^[76]。橡胶树白粉病菌 (*Oidium heveae* B.A.Steinmann) 基因组分析预测了 141 个经典分泌型效应蛋白及非经典型效应蛋白,

其中对 1 个非经典型效应蛋白 OH_0367 的表达分析发现,其在白粉菌侵染阶段上调表达,并且可以抑制植物水杨酸的合成从而促进病原菌致病^[77]。综上所述,效应蛋白研究是深入理解植物-病原菌互动的重要切入点,但是相较于有关卵菌、稻瘟菌、镰刀菌、黑粉菌等农作物病原菌较为深入的研究,林木病原真菌的效应蛋白研究还处于起步阶段。

3 林木-病原菌基因组与转录组学

寄主与病原菌在长期的互动与进化过程中,在分子水平形成了复杂的互动网络,单个基因功能的研究不足以全面揭示二者互作的分子机制。基因组与转录组数据分析对于研究寄主与病原菌的互动关系十分必要。目前大量树种,包括巨桉 (*Eucalyptus grandis*)、橄榄 (*Olea europaea*)、板栗 (*Castanea mollissima*)、黑松 (*Pinus contorta*)、马尾松 (*Pinus massoniana*)、白蜡树 (*Fraxinus* spp.)、橡胶树 (*Hevea brasiliensis*)、茶树 (*Camellia sinensis*)、杨梅 (*Myrica rubra*)、山苍子 (*Litsea cubeba*)、毛果杨 (*Populus trichocarpa*) 等已经完成了全基因组测序^[78-79],为许多重要林木的组学研究提供了基础条件。如毛果杨表面受体多基因家族 LRR-RLPs 与杨树中小分子未知功能类蛋白 SPUFs 出现频繁的关联性,转录组学数据显示 1 对 LRR-RLPs 和 SPUFs 蛋白在杨树伤口反应中同步表达,并且两个基因在启动子区域存在约 300 个氨基酸长度序列的同源性,为杨树免疫过程中配体-受体成对调控的研究提供了新的思路^[80]。部分林木病原菌的效应蛋白被预测,如对山田胶锈菌和亚洲胶锈菌的比较转录组学分析,最终分别预测 34 个和 7 个候选效应蛋白^[81]。挪威云杉 [*Picea abies* (L.) Karst.] 根腐病菌 (*Heterobasidion parviporum*) 15 个菌株的比较基因组学分析预测了病原菌致病相关基因及候选效应蛋白^[82]。对杨树黑斑病发病区域的杨树无性系 NL895 进行混合转录组测序,分析得到杨树-黑斑病菌互作相关的 768 个病原真菌基因以及 54 个杨树基因。这些基因间的关系可以分为 3 类:真菌单基因与杨树多个基因具有关联性;杨树单基因与真菌多个基因具有关联性;其他相关关联性较低基因。其中真菌金属蛋白酶 M6-08342 与 10 个杨树基因具有明显关联性,并包含两个抗病相关基因^[83]。对苹果白粉病菌 (*Podosphaera leucotricha*) 不同侵染时期的叶片中与植物激素相关的信号通路及植物真菌互作相关基因的表达模式进行了分析,筛选获得了部分苹果抗白粉病的候选基

因^[84]。在茶白星病侵染茶叶过程中,利用转录组学分析得到2 180条差异表达基因,并且鉴定了部分关键上调表达基因,如细胞色素基因 *P 450*、*Hsp 90.1*、*Hsp 70* 及 *TT 4* 等基因^[85]。基于全基因组序列对核桃细菌性黑斑病菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*) 7个菌株进行分析,预测得到520个分泌蛋白,有效地缩小了对其外泌蛋白的研究范围^[86]。马文博等^[87]对引起柑橘黄龙病的韧皮杆菌属 (*Candidatus Liberibacter*) 的36个菌株的基因组进行了分析,揭示了各个菌株间的系统发育以及致病力分化关系,并且预测了包括 Sec 转位通道 (Sec translocon) 依赖的关键毒力相关效应蛋白。基因组与转录组学研究不仅可以分析林木-病原菌互作过程的关键基因,同时还能对同属间各病原菌致病力分化进行分析。

4 林木免疫分子机制

4.1 林木识别病原菌及信号转导机制

林木依赖先天免疫系统识别“异己”(non-self),发起对入侵生物的攻击指令,包括林木对保守的病原菌相关分子模式(PAMPs)的识别和林木免疫受体对病原菌效应蛋白的识别。

林木通过细胞表面的 PRRs 对保守的 PAMPs 进行识别,进而激活 PTI 免疫^[88]。不同基因型柑橘对溃疡病菌 (*Xanthomonas citri* ssp. *Xcc*) 的免疫反应与病原分子模式 (PAMP: flg22) 相关。在 Xflg22 识别初期,抗病金桔 (*Fortunella margarita*) 中各类防卫基因的表达有显著性的升高,而感病品种邓肯葡萄柚 (*Citrus paradisi*) 中该类基因没有被诱导表达,反映出 Xflg22 能够在抗性基因型柑橘品种中启动强力的 PTI^[89]。

植物中抗病基因(resistance gene, R gene)编码的抗病蛋白可识别效应蛋白,进而激活 ETI 免疫。在苹果基因组中已经鉴定出868个R基因,这些基因对许多病原物有效,如抗苹果黑星病的 *Vf* 基因,它们编码的蛋白能识别病原效应蛋白并激活防御反应,表现为感染部位的局部过敏性坏死^[90]。

MAPK 级联在植物先天免疫应答不同生物胁迫中发挥着重要作用,是植物对病原物产生抗性的关键^[91]。在林木中关于 MAPK 信号途径的研究虽不如模式植物中的透彻,但是相关工作也逐渐开展起来。柑橘 CsMAP9-like 蛋白在柑橘抵抗褐斑病中发挥了重要作用^[92]。白粉菌侵染葡萄后,寄主 *VvMPK 1* 和 *VvMPK 10* 基因分别在病原菌侵染12和48 h后显著上调表达,而 *VvMPK 9* 基因的表达

量随着侵染时间的延长而增加,推测其与抗病有关^[93-94]。

信号传递最终会作用于转录因子调控进而调控一系列转录过程。植物中的多个转录因子家族的众多成员参与了对生物、非生物胁迫的响应,目前发现与植物防卫反应有关的转录因子家族主要有 ERF 蛋白、NAC 蛋白、WRKY 蛋白和 MYB 蛋白等^[95]。WRKY 蛋白作为植物所特有的转录因子,是近年新发现的新型锌指结构转录调控因子,与部分病程相关基因(pathogenesis-related, PR)表达显著相关,在植物-病原菌互作中发挥重要作用^[96-97]。小黑杨 *PsnWRKY70* 基因能响应叶枯病菌侵染。苹果 *MdWRKY 33-1*、*MdWRKY 40b* 基因的表达与病程相关基因 MdPRs 表达或抗性调控相关。湖北海棠 *MhWRKY1* 基因在调节水杨酸(SA)介导的系统获得性抗性(SAR)中起关键作用,导入该基因的苹果对白粉病的抗性增强^[98-100]。柑橘 *CsBZIP 40* 基因通过调节 SA 途径影响柑橘抗性,其表达水平与柑橘溃疡病的抗性呈正相关^[101]。

泛素连接酶通过泛素化修饰调控靶蛋白的降解、转运和功能变化,是控制免疫信号转导的重要调控因子。我国学者发现了水稻和拟南芥的多个 E3 泛素连接酶在植物免疫调控中的功能和作用机理。在木本植物中,苹果 BTB-BACK 结构域的 E3 泛素连接酶蛋白 POZ/BTB CONTAINING-PROTEIN 1 (MdPOB1) 通过泛素化降解 U-box 结构域的 E3 泛素连接酶 MdPUB29 抑制苹果对 *B. dothidea* 的防御能力,但 MdPUB29 是苹果轮纹病抗性的正调控因子^[102-106]。

4.2 林木病程相关蛋白对病原菌的防御机制

植物病程相关蛋白 PRs 在健康的植物中不表达或者表达量很低,当受到病原物或其他刺激后会大量表达。PR 蛋白有17个家族,且常表现为 β -1,3-内葡聚糖酶、几丁质酶等多个家族共同作用,以限制病原菌的生长和蔓延。一些家族如 PR-8 家族成员具有溶解酵素活性,直接作用于细菌;而防御素(PR-12)、抗菌肽(PR-13)、部分脂质转移蛋白(PR-14)、PR-1 和类甜蛋白 PR-5 都有广谱抗细菌和真菌活性^[107]。林木通过引入抗菌肽基因可有效控制病原菌侵入。如将人工合成抗菌肽 Shiva A 和天蚕抗菌肽 Cecropin B 基因同时引入锦橙 (*C. sinensis*),得到的转基因植株对 *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Xcc 的抗性显著提高。黑星病菌 (*Venturia inaequalis*) 能诱导苹果叶片中 PR-2、PR-5 和 PR-8 的表达发挥抗菌功能^[90]。但是目

前对 PR 蛋白在植物抗逆过程中的功能及其调控机制的了解还远远不够。

4.3 林木次生代谢产物介导的防御反应

林木防御反应相关的次生代谢产物植保素 (Phytoalexin, PA) 能有效地抵御各种生物胁迫。Wang 等^[108]发现耐病葡萄柚杂交种 Jackson 和感病葡萄柚 Marsh 在次生代谢上存在显著差异。其中除了萜烯合成酶相关基因 (*CiClev 10014707*, *Ciclev 10017785*) 在耐黄龙病的 Jackson 中下调表达外,涉及类萜生物合成的 β -丙氨酸合酶 (*Ciclev10033766*, *Ciclev10033930*, *Ciclev10033377*)、环阿屯醇合酶 (*Ciclev 10010416*) 和 LIJ 梨醇 C 合酶 (*Ciclev 10031967*) 均显著上调^[108]。Zhong 等^[109]通过数字基因表达谱分析比较了接种黄龙病菌 13 周和 26 周的碰柑,发现参与类黄酮、苯丙素、木质素、类异戊二烯和生物碱代谢的次生代谢相关基因的表达大部分在接种黄龙病菌 13 周下调,但大多在接种黄龙病菌 26 周时上调。

4.4 林木分子抗病育种研究

目前许多植物抗病研究的重点集中在广谱抗病基因的鉴定,或者同时聚合多个抗病基因来达到扩展植物抗病谱的范围。由于林木培育周期长,多基因聚合抗病可能是防止抗病性丢失的重要方向。对于林木抗病育种,林木转基因技术也提供了良好的解决途径。在板栗疫病研究中,Charles Maynard 团队成功开发了板栗的转化体系,并且鉴定了多个板栗抗疫病的候选基因^[110-111]。板栗转基因植株表达草酸氧化酶 OxO (oxalate oxidase) 对板栗疫病具有良好抗性^[112-113]。在转基因杂交杨树表达 OxO 可以提高杨树对病原真菌 *Septoria musiva* 的抗性^[114]。随着 Cross kingdom micro RNA 与寄主诱导的基因沉默技术 (HIGS) 的发展,为林木的抗病分子研究开拓了一条新的途径。众多研究表明 HIGS 对多种植物病原真菌 *Fusarium verticillioides*、*F. graminearum*、*F. oxysporum*, 以及 *Blumeria graminis*、*Puccinia triticina* 都有着很好的抑制效果^[115-117]。在大丽轮枝菌中,*VdH1* 基因缺失后突变体致病性显著下降,HIGS 靶向植物病原真菌关键基因可有效提高棉花对于大丽轮枝菌的抗性^[118]。同时棉花可通过 miRNA 来抑制大丽轮枝菌致病基因的表达,从而抑制病原菌侵入^[119]。毛果杨和毛白杨处于干旱状态时 miR472 上调表达,在高盐分处理的胡杨中下调表达,表明 miR472 可能靶向杨树 NBS-LRR 的转录,从而提高了杨树抗病能力;同时当 miR472 过表达后对杨树腐烂病菌

(*C. chrysosperma*) 表现高度抗性^[120]。苹果在抵御叶斑病真菌 (*Glomerella cingulata* 或 *Colletotrichum gloeosporioides*) 侵染时, Md-miR156ab 和 Md-miR395 分别靶向转录因子 MDWRKyn1 和 MD-WRKY26, 从而影响苹果对叶斑病的抗性^[121]。Md-miRln20 通过抑制 Md-TN1-GLS 的表达调控苹果对 *G. cingulata* 的抗病性^[122]。当然,HIGS 技术还在发展完善的过程中,例如 HIGS 的靶标位点一般只是目标基因的小部分序列,容易造成同源非靶标基因的沉默。HIGS 有一定的寄主-病原体系统限制,不能保证其在各个系统中均有高效的沉默效率,也无法像基因敲除一样完全阻断目标基因的表达,而只能抑制其表达。目前 HIGS 还没有应用于林木抗病研究中,在林木-病原菌互作体系的应用难度或问题还有待探索 and 解决,但是基于 microRNA 以及 HIGS 技术,其所表现出的简便性与抗病潜力对于今后的林木分子抗病研究有重要意义。

在木本植物中,利用 CRISPR 技术体系的基因组定点编辑研究在杨树中率先开展。2015 年,美国佐治亚大学的 Zhou 等^[123]首次利用 CRISPR/Cas9 系统,在毛白杨 (*Populus tomentosa*) 中实现了木质素合成关键酶基因的定点编辑。紧接着,国内研究人员也实现了 CRISPR/Cas9 对毛白杨多个靶基因的敲除,并且获得多基因突变植株^[124-125]。此外,国内外目前对茶树 [*Camellia sinensis* (L.) O. Ktze.]、甜橙 [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]、苹果 (*Malus pumila*) 也实现了 CRISPR/Cas9 的靶向敲除突变^[126-128]。但在真菌中,由于其同源重组率极低、高效遗传转化体系的缺乏、启动子和有效筛选标记的缺乏等原因,CRISPR/Cas9 的应用还主要集中在酵母、霉菌、稻瘟菌、玉米黑粉菌、尖孢镰刀菌以及蕈菌等真菌中^[129-132],并且在应用过程中出现的脱靶、编辑效率低以及突变体筛选工作量大等问题也亟待解决^[133]。

因此,对于林木抗病分子育种还局限在传统抗病育种领域内,对于许多新兴方向和技术突破和应用还十分欠缺,未来如何突破技术壁垒是推进林木抗病分子研究的关键。

5 林木与内生真菌、外生真菌互作研究热点

在自然界中,内生真菌及外生真菌如何与林木的免疫系统“和平共处”,其依赖的分子机制可以帮助人们从免疫水平揭开共生的分子机制,并为林

木-病原菌互作研究提供新的方向或思路。

按照“内共生理论”,许多林木内生真菌可以产生与其宿主相同或相似的代谢产物。因此,从林木内生真菌中筛选和提取有宿主药理活性的物质,许多新型药物拓展研发途径,并成为重要的研究方向^[134-135],也获得了很多内生菌资源^[136-138],并筛选出了能高产紫杉烷类物质的菌株^[139]。然而大量研究表明内生真菌还与林木抗病虫害相关。Arnold等^[140]研究发现可可树(*Theobroma cacao*)接种叶片优势内生真菌菌群可有效减少由棕榈疫霉(*Phytophthora palmivora*)引起的危害。袁秀英等^[141]开展了美洲黑杨杂种无性系 NL-80351 杨、美洲黑杨无性系和欧美杨休眠芽、叶片、树皮和枝条等组织内生真菌分离培养和鉴定工作,发现某些菌株对杨树烂皮病菌(*Cytospora* sp.)有一定的拮抗作用。Busby等^[142]在控制实验中发现接种杨树叶片内生葡萄穗霉(*Stachybotrys* sp.)、深绿木霉(*Trichoderma atroviride*)、黑细基格孢(*Ulocladium atrum*)和狭截盘多毛孢(*Truncatella angustata*)等菌株可增强毛果杨对杨栅锈菌的抗性,其抗病机制可能与内生菌诱导林木抗病相关基因的表达有关。

菌根真菌与植物会发生物种间的基因转移,从而促进演化历程。Wang等^[143]对苔藓 *MACRO 2* 基因进行了沉默及过表达,揭示了来自菌根类真菌的该基因影响了宿主的表观修饰与发育。菌根真菌与植物间基因转移很可能是陆生植物性状产生与演化的重要因素。在农作物与模式植物中,有关共生菌与植物之间适应性的分子机制,以及植物与病原菌、共生菌的免疫识别差异的机制均有大量研究^[9, 144-145]。林木共生菌的研究主要集中在共生菌的次生代谢产物,及其对植物抗病性、胁迫抗性影响等领域,对于内生真菌、外生真菌与林木的分子互作机制研究还十分匮乏,而外生真菌与林木的互作在对大尺度景观以及生态系统的稳定性等具有很大的研究潜力。因此探索共生真菌与植物、林木之间互作分子机制,对揭示植物进化与适应性形成的分子基础具有重要意义。

6 结 语

自然界中植物与微生物、病原菌具有极为复杂的关系,许多植物-病原菌互作所涉及生理过程的分子机制尚有待探究。对于植物-微生物或者植物-病原菌的互作理论,普遍接受二者“军备竞赛”的关系,代表性互作模式都是基于“基因对基因”学说、“警戒”假说以及“诱饵”假说不断发展而来。

例如近年一些科学家大胆引入中国传统哲学思想中的“阴阳”概念,来阐释二者协调发展而又相生相克的关系^[146]。因此随着互作机制研究的不断深入,理论与假说不断完善和补充,许多哲学概念或者社会学理论也可以与互作模式理论结合起来。随着经济的飞速发展,生物及生态领域获得越来越多的关注和资源分配。相较于农作物领域对于经济的重要性,林业更偏重于其对于生态的重要性,相应地林业病害相较于农作物病害虽造成较少的经济损失,但其对于生态环境及绿色发展造成严重及深远的影响。笔者对林木-病原菌未来的研究方向展望如下:

1)应充分利用 CRISPR/Cas 9 等基因编辑技术的快速高效等优点,对林木与病原菌互作中的关键基因的功能进行解析。

2)目前基因组、转录组、蛋白组和代谢组的测序和分析手段日趋成熟,组学大数据的深度挖掘是未来林木与病原菌互作组学研究突破的关键。

3)林木的抗病育种受到其生长周期长、遗传操作困难等因素的限制,生产上缺少高效的转基因抗病材料,利用 HIGS 等新技术和分子操作工具将是解决林木抗病材料分子育种的关键。

林木病理学研究不仅要跟上植物学、微生物学领域互作研究的热点和前沿,林木-病原菌互作也需要根据实际需要探索特色研究方向。

参考文献(reference):

- [1] DEAN R, VAN KAN J A L, PRETORIUS Z A, et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology [J]. *Mol Plant Pathol*, 2012, 13 (4): 414 - 430. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x.
- [2] KAMOUN S, FURZER O, JONES J D G, et al. The top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology [J]. *Mol Plant Pathol*, 2015, 16 (4): 413-434. DOI: 10.1111/mpp.12190.
- [3] MANSFIELD J, GENIN S, MAGORI S, et al. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology [J]. *Mol Plant Pathol*, 2012, 13 (6): 614 - 629. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x.
- [4] JOHAL G S, BRIGGS S P. Reductase activity encoded by the HM1 disease resistance gene in maize [J]. *Science*, 1992, 258 (5084): 985-987. DOI: 10.1126/science.1359642.
- [5] LI J, WEN J Q, LEASE K A, et al. BAK1, an *Arabidopsis* LRR receptor-like protein kinase, interacts with BRI1 and modulates brassinosteroid signaling [J]. *Cell*, 2002, 110 (2): 213-222. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)00812-7.
- [6] LIEBRAND T W, VAN DEN BURG H A, JOOSTEN M H. Two for all: Receptor-associated kinases SOBIR1 and BAK1 [J]. *Trends Plant Sci*, 2014, 19 (2): 123 - 132. DOI: 10.1016/j.tplants.2013.10.003.
- [7] LU D, HE P, SHAN L. Bacterial effectors target BAK1-associated receptor complexes: One stone two birds [J]. *Commun Integr Biol*, 2010, 3 (2): 80-83. DOI: 10.4161/cib.3.2.10301.
- [8] GUST A A, PRUITT R, NÜRNBERGER T. Sensing danger: Key to activating plant immunity [J]. *Trends Plant Sci*, 2017, 22 (9): 779-791. DOI: 10.1016/j.tplants.2017.07.005.
- [9] ZHOU F, EMONET A, DÉNERVAUD TENDON V, et al. Co-incidence of damage and microbial patterns controls localized immune

- responses in roots [J]. *Cell*, 2020, 180 (3): 440–453. e18. DOI: 10.1016/j.cell.2020.01.013.
- [10] ZHOU F, EMONET A, DÉNERVAUD TENDON V, et al. Co-incidence of damage and microbial patterns controls localized immune responses in roots [J]. *Cell*, 2020, 180 (3): 440–453. e18. DOI: 10.1016/j.cell.2020.01.013.
- [11] BIAŁAS A, ZESS E K, DE LA CONCEPCION J C, et al. Lessons in effector and NLR biology of plant-microbe systems [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2018, 31 (1): 34–45. DOI: 10.1094/mpmi-08-17-0196-fi.
- [12] BONARDI V, TANG S, STALLMANN A, et al. Expanded functions for a family of plant intracellular immune receptors beyond specific recognition of pathogen effectors [J]. *PNAS*, 2011, 108 (39): 16463–16468. DOI: 10.1073/pnas.1113726108.
- [13] JUBIC L M, SAILE S, FURZER O J, et al. Help wanted: helper NLRs and plant immune responses [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2019, 50: 82–94. DOI: 10.1016/j.pbi.2019.03.013.
- [14] ZHANG H, DEMIRER G S, ZHANG H, et al. DNA nanostructures coordinate gene silencing in mature plants [J]. *PNAS*, 2019, 116 (15): 7543–7548. DOI: 10.1073/pnas.1818290116.
- [15] WANG H, ZOU S, LI Y, et al. An ankyrin-repeat and WRKY-domain-containing immune receptor confers stripe rust resistance in wheat [J]. *Nat Commun*, 2020, 11 (1): 1353. DOI: 10.1038/s41467-020-15139-6.
- [16] LI N, LIN B, WANG H, et al. Natural variation in ZmFBL41 confers banded leaf and sheath blight resistance in maize [J]. *Nat Genet*, 2019, 51 (10): 1540–1548. DOI: 10.1038/s41588-019-0503-y.
- [17] WANG H, SUN S, GE W, et al. Horizontal gene transfer of Fhb7 from fungus underlies *Fusarium* head blight resistance in wheat [J]. *Science*, 2020, 368 (6493). DOI: 10.1126/science.aba5435.
- [18] XU G, YUAN M, AI C, et al. uORF-mediated translation allows engineered plant disease resistance without fitness costs [J]. *Nature*, 2017, 545 (7655): 491–494. DOI: 10.1038/nature22372.
- [19] MAHER M F, NASTI R A, VOLLBRECHT M, et al. Plant gene editing through de novo induction of meristems [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38 (1): 84–89. DOI: 10.1093/biotechnology/btw561.
- [20] DEMIRER G S, ZHANG H, GOH N S, et al. Carbon nanotube-mediated DNA delivery without transgene integration in intact plants [J]. *Nat Protoc*, 2019, 14 (10): 2954–2971. DOI: 10.1038/s41596-019-0208-9.
- [21] LORRAIN C, GONÇALVES D K C, GERMAIN H, et al. Advances in understanding obligate biotrophy in rust fungi [J]. *New Phytol*, 2019, 222 (3): 1190–1206. DOI: 10.1111/nph.15641.
- [22] DE JONGE R, VAN ESSE H P, KOMBRINK A, et al. Conserved fungal LysM effector Ecp6 prevents chitin-triggered immunity in plants [J]. *Science*, 2010, 329 (5994): 953–955. DOI: 10.1126/science.1190859.
- [23] GAO F, ZHANG B S, ZHAO J H, et al. Deacetylation of chitin oligomers increases virulence in soil-borne fungal pathogens [J]. *Nat Plants*, 2019, 5 (11): 1167–1176. DOI: 10.1038/s41477-019-0527-4.
- [24] MA Z, ZHU L, SONG T, et al. A paralogous decoy protects *Phytophthora sojae* apoplastic effector PsXEG1 from a host inhibitor [J]. *Science*, 2017, 355 (6326): 710–714. DOI: 10.1126/science.aai7919.
- [25] NAVARRO L, JAY F, NOMURA K, et al. Suppression of the microRNA pathway by bacterial effector proteins [J]. *Science*, 2008, 321 (5891): 964–967. DOI: 10.1126/science.1159505.
- [26] YIN C, RAMACHANDRAN S R, ZHAI Y, et al. A novel fungal effector from *Puccinia graminis* suppressing RNA silencing and plant defense responses [J]. *New Phytol*, 2019, 222 (3): 1561–1572. DOI: 10.1111/nph.15676.
- [27] HOU Y, ZHAI Y, FENG L, et al. A *Phytophthora* effector suppresses trans-kingdom RNAi to promote disease susceptibility [J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25 (1): 153–165. e5. DOI: 10.1016/j.chom.2018.11.007.
- [28] QIAO Y, SHI J, ZHAI Y, et al. *Phytophthora* effector targets a novel component of small RNA pathway in plants to promote infection [J]. *PNAS*, 2015, 112 (18): 5850–5855. DOI: 10.1073/pnas.1421475112.
- [29] KETTLES G J, BAYON C, SPARKS C A, et al. Characterization of an antimicrobial and phytotoxic ribonuclease secreted by the fungal wheat pathogen *Zymoseptoria tritici* [J]. *New Phytol*, 2018, 217 (1): 320–331. DOI: 10.1111/nph.14786.
- [30] SNELDERS N C, KETTLES G J, RUDD J J, et al. Plant pathogen effector proteins as manipulators of host microbiomes? [J]. *Mol Plant Pathol*, 2018, 19 (2): 257–259. DOI: 10.1111/mpp.12628.
- [31] BONAS U, STALL R E, STASKAWICZ B. Genetic and structural characterization of the avirulence gene avrBs3 from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* [J]. *Mol Gen Genet*, 1989, 218 (1): 127–136. DOI: 10.1007/BF00339575.
- [32] GÓMEZ-GÓMEZ L, BAUER Z, BOLLER T. Both the extracellular leucine-rich repeat domain and the kinase activity of FLS2 are required for flagellin binding and signaling in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2001, 13 (5): 1155–1163. DOI: 10.1105/tpc.13.5.1155.
- [33] GALAGAN JE, CALVO S E, BORKOVICH K A, et al. The genome sequence of the filamentous fungus *Neurospora crassa* [J]. *Nature*, 2003, 422 (6934): 859–868. DOI: 10.1038/nature01554.
- [34] DEAN RA, 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. DOI: 10.1038/nature03449.
- [35] JONES J D G, DANGL J L. The plant immune system [J]. *Nature*, 2006, 444 (7117): 323–329. DOI: 10.1038/nature05286.
- [36] ZHANG J, ZHOU J M. Plant immunity triggered by microbial molecular signatures [J]. *Mol Plant*, 2010, 3 (5): 783–793. DOI: 10.1093/mp/ssq035.
- [37] KHANG C H, BERRUYER R, GIRALDO M C, et al. Translocation of *Magnaporthe oryzae* effectors into rice cells and their subsequent cell-to-cell movement [J]. *Plant Cell*, 2010, 22 (4): 1388–1403. DOI: 10.1105/tpc.109.069666.
- [38] HAN Z, SUN Y, CHAI J. Structural insight into the activation of plant receptor kinases [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2014, 20: 55–63. DOI: 10.1016/j.pbi.2014.04.008.
- [39] MACHO AP, LOZANO-DURÁN R, ZIPFEL C. Importance of tyrosine phosphorylation in receptor kinase complexes [J]. *Trends Plant Sci*, 2015, 20 (5): 269–272. DOI: 10.1016/j.tplants.2015.02.005.
- [40] DENG Y, ZHAI K, XIE Z, et al. Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance [J]. *Science*, 2017, 355 (6328): 962–965. DOI: 10.1126/science.aai8898.
- [41] LI W, ZHU Z, CHERN M, et al. A natural allele of a transcription factor in rice confers broad-spectrum blast resistance [J]. *Cell*, 2017, 170 (1): 114–126. e15. DOI: 10.1016/j.cell.2017.06.008.
- [42] HUA C, ZHAO J H, GUO H S. Trans-kingdom RNA silencing in plant-fungal pathogen interactions [J]. *Mol Plant*, 2018, 11 (2): 235–244. DOI: 10.1016/j.molp.2017.12.001.
- [43] WANG J, WANG J, HU M, et al. Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex [J]. *Science*, 2019, 364 (6435). DOI: 10.1126/science.aav5868.
- [44] WANG J, HU M, WANG J, et al. Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity [J]. *Science*, 2019, 364 (6435). DOI: 10.1126/science.aav5870.
- [45] HE P, WANG Y, WANG X, et al. The mitogen-activated protein kinase CgMK1 governs appressorium formation, melanin synthesis, and plant infection of *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2216. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02216.
- [46] FANG Y L, XIA L M, WANG P, et al. The MAPKKK CgMek1 is required for cell wall integrity, appressorium development, and pathogenicity in *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. *Genes (Basel)*, 2018, 9 (11). DOI: 10.3390/genes9110543.
- [47] LIN C H, YANG S L, CHUNG K R. Cellular responses required for oxidative stress tolerance, colonization, and lesion formation by the necrotrophic fungus *Alternaria alternata* in *Citrus* [J]. *Curr Microbiol*, 2011, 62 (3): 807–815. DOI: 10.1007/s00284-010-9795-y.
- [48] TSUGE T, HARIMOTO Y, AKIMITSU K, et al. Host-selective toxins produced by the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata* [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2013, 37 (1): 44–66. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2012.00350.x.
- [49] GARGANESE F, SCHENA L, SICILIANO I, et al. Characterization of *Citrus*-associated *Alternaria* species in Mediterranean areas [J].

- PLoS One, 2016, 11 (9): e0163255. DOI: 10.1371/journal.pone.0163255.
- [50] MIYAMOTO Y, MASUNAKA A, TSUGE T, et al. Functional analysis of a multicopy host-selective ACT-toxin biosynthesis gene in the tangerine pathotype of *Alternaria alternata* using RNA silencing[J]. Mol Plant Microbe Interact, 2008, 21 (12): 1591–1599. DOI: 10.1094/mpmi-21-12-1591.
 - [51] TANABE K, NISHIMURA S, KOHMOTO K. Pathogenicity of cutinase-and pectic enzymes-deficient mutants of *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype[J]. Jpn J Phytopathol, 1988, 54 (4): 552–555. DOI: 10.3186/jjphytopath.54.552.
 - [52] DELLEDONNE M, ZEIER J, MAROCCO A, et al. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98 (23): 13454–13459. DOI: 10.1073/pnas.231178298.
 - [53] RODRÍGUEZ-PALENZUELA P, MATAS I M, MURILLO J, et al. Annotation and overview of the *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPB 3335 draft genome reveals the virulence gene complement of a tumour-inducing pathogen of woody hosts[J]. Environ Microbiol, 2010, 12 (6): 1604–1620. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2010.02207.x.
 - [54] DELLEDONNE M, XIA Y J, DIXON R A, et al. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance[J]. Nature, 1998, 394 (6693): 585–588. DOI: 10.1038/29087.
 - [55] ALKAN N, MENG X, FRIEDLANDER G, et al. Global aspects of pacC regulation of pathogenicity genes in *Colletotrichum gloeosporioides* as revealed by transcriptome analysis[J]. Mol Plant Microbe Interact, 2013, 26 (11): 1345–1358. DOI: 10.1094/mpmi-03-13-0080-r.
 - [56] YAKOBY N, BENO-MOUALEM D, KEEN N T, et al. *Colletotrichum gloeosporioides* pelB is an important virulence factor in avocado fruit-fungus interaction[J]. Mol Plant Microbe Interact, 2001, 14 (8): 988–995. DOI: 10.1094/mpmi.2001.14.8.988.
 - [57] WANG Y Y, WANG Y L. Oxalic acid metabolism contributes to full virulence and pycnidial development in the poplar canker fungus *Cytospora chrysosperma*[J]. Phytopathology, 2020, 110 (7): 1319–1325. DOI: 10.1094/PHYTO-10-19-0381-R.
 - [58] YU C, LI T, SHI X, et al. Deletion of endo- β -1, 4-xylanase VmXyl1 impacts the virulence of *Valsa mali* in apple tree[J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 663. DOI: 10.3389/fpls.2018.00663.
 - [59] WU Y, XU L, YIN Z, et al. Two members of the velvet family, VmVeA and VmVelB, affect conidiation, virulence and pectinase expression in *Valsa mali*[J]. Mol Plant Pathol, 2018, 19 (7): 1639–1651. DOI: 10.1111/mpm.12645.
 - [60] WU YX, XU L S, LIU J, et al. A mitogen-activated protein kinase gene (VmPmk1) regulates virulence and cell wall degrading enzyme expression in *Valsa mali*[J]. Microb Pathog, 2017, 111: 298–306. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.09.003.
 - [61] YIN Z, LIU H, LI Z, et al. Genome sequence of *Valsa* canker pathogens uncovers a potential adaptation of colonization of woody bark[J]. New Phytol, 2015, 208 (4): 1202–1216. DOI: 10.1111/nph.13544.
 - [62] CHEN L H, LIN C H, CHUNG K R. Roles for SKN₇ response regulator in stress resistance, conidiation and virulence in the *Citrus* pathogen *Alternaria alternata*[J]. Fungal Genet Biol, 2012, 49 (10): 802–813. DOI: 10.1016/j.fgb.2012.07.006.
 - [63] CHEN L H, YANG S L, CHUNG K R. Resistance to oxidative stress via regulating siderophore-mediated iron acquisition by the *Citrus* fungal pathogen *Alternaria alternata*[J]. Microbiology (Reading), 2014, 160 (pt 5): 970–979. DOI: 10.1099/mic.0.076182-0.
 - [64] CHUNG K R. Reactive oxygen species in the *Citrus* fungal pathogen *Alternaria alternata*: The roles of NADPH-dependent oxidase[J]. Physiol Mol Plant Pathol, 2014, 88: 10–17. DOI: 10.1016/j.pmpp.2014.08.001.
 - [65] LIN C H, YANG S L, CHUNG K R. Cellular responses required for oxidative stress tolerance, colonization, and lesion formation by the necrotrophic fungus *Alternaria alternata* in *Citrus*[J]. Curr Microbiol, 2011, 62 (3): 807–815. DOI: 10.1007/s00284-010-9795-y.
 - [66] YANG S L, CHUNG K R. Similar and distinct roles of NADPH oxidase components in the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*[J]. Mol Plant Pathol, 2013, 14 (6): 543–556. DOI: 10.1111/mpm.12026.
 - [67] YU P L, CHEN L H, CHUNG K R. How the pathogenic fungus *Alternaria alternata* copes with stress via the response regulators SSK₁ and SHO₁[J]. PLoS One, 2016, 11 (2): e0149153. DOI: 10.1371/journal.pone.0149153.
 - [68] YANG S L, YU P L, CHUNG K R. The glutathione peroxidase-mediated reactive oxygen species resistance, fungicide sensitivity and cell wall construction in the *Citrus* fungal pathogen *Alternaria alternata*[J]. Environ Microbiol, 2016, 18 (3): 923–935. DOI: 10.1111/1462-2920.13125.
 - [69] SUN Y, WANG Y, TIAN C. bZIP transcription factor CgAP1 is essential for oxidative stress tolerance and full virulence of the poplar anthracnose fungus *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Fungal Genet Biol, 2016, 95: 58–66. DOI: 10.1016/j.fgb.2016.08.006.
 - [70] WANG X, XU X, LIANG Y, et al. A Cdc42 homolog in *Colletotrichum gloeosporioides* regulates morphological development and is required for ROS-mediated plant infection[J]. Curr Genet, 2018, 64 (5): 1153–1169. DOI: 10.1007/s00294-018-0833-9.
 - [71] 韦运谢. 芒果炭疽病菌漆酶基因 Lac1 的克隆与致病相关功能鉴定[D]. 海口: 海南大学, 2014. WEI Y X. Cloning and functional identification of laccase gene (Lac1) in pathogenicity from *Colletotrichum gloeosporioides* the pathogen of mango anthracnose disease[D]. Haikou: Hainan University, 2014.
 - [72] TANG C, JIN X J, KLOSTERMAN S J, et al. Convergent and distinctive functions of transcription factors VdYap1, VdAtf1, and VdSkn7 in the regulation of nitrosative stress resistance, micro-sclerotia formation, and virulence in *Verticillium dahliae*[J]. Mol Plant Pathol, 2020, 21 (11): 1451–1466. DOI: 10.1111/mpm.12988.
 - [73] DE GUILLEN K, LORRAIN C, TSAN P, et al. Structural genomics applied to the rust fungus *Melampsora larici-Populina* reveals two candidate effector proteins adopting cystine knot and NTF2-like protein folds[J]. Sci Rep, 2019, 9 (1): 18084. DOI: 10.1038/s41598-019-53816-9.
 - [74] AHMED M B, SANTOS K C G D, SANCHEZ I B, et al. A rust fungal effector binds plant DNA and modulates transcription[J]. Sci Rep, 2018, 8 (1): 14718. DOI: 10.1038/s41598-018-32825-0.
 - [75] 刘霞, 陶思齐, 翁涵, 等. 山田胶锈菌和亚洲胶锈菌吸器提取体系建立[J]. 菌物学报, 2019, 38 (9): 1430–1439. LIU X, TAO S Q, WENG H, et al. Construction of haustorial isolation systems of *Gymnosporangium yamadai* and *G. asiaticum*[J]. Mycosystema, 2019, 38 (9): 38: 1430–1439. DOI: 10.13346/j.mycosystema.190049.
 - [77] 何其光, 刘耀, 廖小森, 等. 橡胶树白粉菌非经典分泌效应蛋白 OH0367 抑制植物水杨酸的合成[C]//中国植物病理学会第十一届全国会员代表大会暨 2018 年学术年会论文集. 北京, 2018: 57.
 - [78] 黄小花, 许锋, 程华, 等. 转录组测序在高等植物中的研究进展[J]. 黄冈师范学院学报, 2014, 34 (6): 28–35. HUANG X H, XU F, CHENG H, et al. Recent advances of transcriptome sequencing in higher plants[J]. J Huanggang Norm Univ, 2014, 34 (6): 28–35.
 - [79] 牛春阳, 李丹蕾, 王峰, 等. 基于转录组的欧美杨 Pnd-WRKY3 基因克隆及其抗锈菌表达[J]. 东北林业大学学报, 2015, 43 (9): 1–5. NIU C Y, LI D L, WANG F, et al. Isolation and expression of pnd-WRKY₃ transcription factor gene from poplar (*Populus nigra* × *P. deltoides*)[J]. J Northeast For Univ, 2015, 43 (9): 1–5. DOI: 10.13759/j.cnki.dlxb.20150721.002.
 - [80] PETRE B, HACQUARD S, DUPLESSIS S, et al. Genome analysis of poplar LRR-RLP gene clusters reveals RISP, a defense-related gene coding a candidate endogenous peptide elicitor[J]. Front Plant Sci, 2014, 5: 111. DOI: 10.3389/fpls.2014.00111.
 - [81] TAO SQ, CAO B, TIAN C M, et al. Comparative transcriptome analysis and identification of candidate effectors in two related rust species (*Gymnosporangium yamadai* and *Gymnosporangium asiaticum*)[J]. BMC Genomics, 2017, 18 (1): 651. DOI: 10.1186/s12864-017-4059-x.
 - [82] ZENG Z, SUN H, VAINIO E J, et al. Intraspecific comparative

- genomics of isolates of the Norway spruce pathogen (*Heterobasidion parviporum*) and identification of its potential virulence factors[J]. BMC Genomics, 2018, 19 (1): 220. DOI: 10.1186/s12864-018-4610-4.
- [83] CHEN C, YAO Y, ZHANG L, et al. A comprehensive analysis of the transcriptomes of *Marssonina brunnea* and infected poplar leaves to capture vital events in host-pathogen interactions[J]. PLoS One, 2015, 10 (7): e0134246. DOI: 10.1371/journal.pone.0134246.
- [84] 田小敏. 基于转录组水平的苹果抗白粉病基因筛选与感病叶片生理指标分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019. TIAN X M. Study on physiological indicators response to powdery mildew of apple and screening of the resistant gene based on transcriptome analysis[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2019.
- [85] 周凌云, 刘红艳, 李维, 等. 基于转录组学分析茶叶与茶白星病菌的互作研究[C]//成都: 中国植物病理学会 2019 年学术年会论文集, 2019: 201.
- [86] 祝友朋, 韩长志, 熊智. 核桃细菌性黑斑病菌分泌蛋白质的理化性质及特征分析[J]. 江苏农业学报, 2019, 35 (2): 295-301. ZHU Y P, HAN C Z, XIONG Z. Physicochemical properties and characteristic analysis of secretory proteins in walnut bacterial black spot pathogen[J]. Jiangsu J Agric Sci, 2019, 35 (2): 295-301. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.02.008.
- [87] THAPA S P, DE FRANCESCO A, TRINH J, et al. Genome-wide analyses of *Liberibacter* species provides insights into evolution, phylogenetic relationships, and virulence factors[J]. Mol Plant Pathol, 2020, 21 (5): 716-731. DOI: 10.1111/mpp.12925.
- [88] AUSUBEL F M. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? [J]. Nat Immunol, 2005, 6 (10): 973-979. DOI: 10.1038/ni1253.
- [89] SHI QC, FEBRES V J, JONES J B, et al. Responsiveness of different *Citrus* genotypes to the *Xanthomonas citri*ss. citri-derived pathogen-associated molecular pattern (PAMP) *flg22* correlates with resistance to *Citrus canker* [J]. Mol Plant Pathol, 2015, 16 (5): 507-520. DOI: 10.1111/mpp.12206.
- [90] GAO Z S, VAN DE WEG W E. The *U₁* gene for scab resistance in apple is linked to sub-lethal genes [J]. Euphytica, 2006, 151 (1): 123-132. DOI: 10.1007/s10681-005-9082-3.
- [91] MENG XZ, XU J, HE Y X, et al. Phosphorylation of an ERF transcription factor by *Arabidopsis* MPK₃/MPK₆ regulates plant defense gene induction and fungal resistance [J]. Plant Cell, 2013, 25 (3): 1126-1142. DOI: 10.1105/tpc.112.109074.
- [92] DE OLIVEIRA M L, DE LIMA SILVA C C, ABE V Y, et al. Increased resistance against *Citrus canker* mediated by a *Citrus* mitogen-activated protein kinase [J]. Mol Plant Microbe Interact, 2013, 26 (10): 1190-1199. DOI: 10.1094/mpmi-04-13-0122-r.
- [93] WANG G, LOVATO A, LIANG Y H, et al. Validation by isolation and expression analyses of the mitogen-activated protein kinase gene family in the grapevine (*Vitis vinifera* L.) [J]. Aust J Grape Wine Res, 2014, 20 (2): 255-262. DOI: 10.1111/ajgw.12081.
- [94] WANG G, LOVATO A, POLVERARI A, et al. Genome-wide identification and analysis of mitogen activated protein kinase kinase gene family in grapevine (*Vitis vinifera*) [J]. BMC Plant Biol, 2014, 14: 219. DOI: 10.1186/s12870-014-0219-1.
- [95] RAMAMOORTHY R, JIANG S Y, KUMAR N, et al. A comprehensive transcriptional profiling of the WRKY gene family in rice under various abiotic and phytohormone treatments [J]. Plant Cell Physiol, 2008, 49 (6): 865-879. DOI: 10.1093/pcp/pcn061.
- [96] BIRKENBIHL R P, KRACHER B, ROCCARO M, et al. Induced genome-wide binding of three *Arabidopsis* WRKY transcription factors during early MAMP-triggered immunity [J]. Plant Cell, 2017, 29 (1): 20-38. DOI: 10.1105/tpc.16.00681.
- [97] WU K L, GUO Z J, WANG H H, et al. The WRKY family of transcription factors in rice and *Arabidopsis* and their origins [J]. DNA Res, 2005, 12 (1): 9-26. DOI: 10.1093/dnares/12.1.9.
- [98] ZHAO H, JIANG J, LI K, et al. *Populus simonii* × *Populus nigra* WRKY70 is involved in salt stress and leaf blight disease responses [J]. Tree Physiol, 2017, 37 (6): 827-844. DOI: 10.1093/treephys/tpx020.
- [99] 罗昌国, 袁启凤, 裴晓红, 等. 富士苹果 MdWRKY40b 基因克隆及其对白粉病的抗性分析[J]. 西北植物学报, 2013, 33 (12): 2382-2387. LUO C G, YUAN Q F, PEI X H, et al. Cloning of MdWRKY40b gene in fuji apple and its response to powdery mildew stress [J]. Acta Bot Boreali-Occidentalia Sin, 2013, 33 (12): 2382-2387.
- [100] 张计育, 佟兆国, 高志红, 等. SA, MeJA, ACC 和苹果轮纹病菌病原菌诱导湖北海棠 MhWRKY1 基因的表达 [J]. 中国农业科学, 2011, 44 (5): 990-999. ZHANG J Y, TONG Z G, GAO Z H, et al. Expression of MhWRKY₁ gene induced by the elicitors SA, MeJA, ACC and the apple ring spot pathogen [J]. Sci Agric Sin, 2011, 44 (5): 990-999.
- [101] 贾瑞端, 周鹏飞, 白晓晶, 等. 柑橘响应溃疡病菌转录因子 Cs-BZIP40 的克隆及功能分析 [J]. 中国农业科学, 2017, 50 (13): 2488-2497. JIA R R, ZHOU P F, BAI X J, et al. Gene cloning and expression analysis of canker-related transcription factor Cs BZIP40 in *Citrus* [J]. Sci Agric Sin, 2017, 50 (13): 2488-2497.
- [102] HAN P L, DONG Y H, GU K D, et al. The apple U-box E3 ubiquitin ligase MdPUB29 contributes to activate plant immune response to the fungal pathogen *Botryosphaeria dothidea* [J]. Planta, 2019, 249 (4): 1177-1188. DOI: 10.1007/s00425-018-03069-z.
- [103] HAN P L, WANG C K, LIU X J, et al. BTB-BACK domain E3 ligase MdPOB₁ suppresses plant pathogen defense against *Botryosphaeria dothidea* by ubiquitinating and degrading Md-PUB29 protein in apple [J]. Plant Cell Physiol, 2019, 60 (10): 2129-2140. DOI: 10.1093/pcp/pcz106.
- [104] HAN P L, DONG Y H, JIANG H, et al. Molecular cloning and functional characterization of apple U-box E3 ubiquitin ligase gene MdPUB29 reveals its involvement in salt tolerance [J]. J Integr Agric, 2019, 18 (7): 1604-1612. DOI: 10.1016/S2095-3119(19)62594-3.
- [105] LIAO D, CAO Y, SUN X, et al. *Arabidopsis* E3 ubiquitin ligase PLANT U-BOX13 (PUB13) regulates chitin receptor LYSIN MOTIF RECEPTOR KINASE5 (LYK₅) protein abundance [J]. New Phytol, 2017, 214 (4): 1646-1656. DOI: 10.1111/nph.14472.
- [106] LIU QN, NING Y S, ZHANG Y X, et al. OsCUL3a negatively regulates cell death and immunity by degrading OsNPR1 in rice [J]. Plant Cell, 2017, 29 (2): 345-359. DOI: 10.1105/tpc.16.00650.
- [107] VAN LOON L C, REP M, PIETERSE C M J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants [J]. Annu Rev Phytopathol, 2006, 44: 135-162. DOI: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425.
- [108] WANG Y, ZHOU L, YU X, et al. Transcriptome profiling of huanglongbing (HLB) tolerant and susceptible *Citrus* plants reveals the role of basal resistance in HLB tolerance [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 933. DOI: 10.3389/fpls.2016.00933.
- [109] ZHONG Y, CHENG C, JIANG B, et al. Digital gene expression analysis of ponkan mandarin (*Citrus reticulata* blanco) in response to Asia *Citrus* psyllid-vectored huanglongbing infection [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17 (7): 1203. DOI: 10.3390/ijms17071063.
- [110] POLIN LD, LIANG H Y, ROTHROCK R E, et al. *Agrobacterium*-mediated transformation of American chestnut (*Castanea dentata* (Marsh.) Borkh.) somatic embryos [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 2006, 84 (1): 69-79. DOI: 10.1007/s11240-005-9002-1.
- [111] STEINER K C, WESTBROOK J W, HEBARD F V, et al. Rescue of American chestnut with extraspecific genes following its destruction by a naturalized pathogen [J]. New For, 2017, 48 (2): 317-336. DOI: 10.1007/s11056-016-9561-5.
- [112] NEWHOUSE A E, POLIN-MCGUIGAN L D, BAIER K A, et al. Transgenic American chestnuts show enhanced blight resistance and transmit the trait to T1 progeny [J]. Plant Sci, 2014, 228: 88-97. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.04.004.
- [113] ZHANG B, OAKES A D, NEWHOUSE A E, et al. A threshold level of oxalate oxidase transgene expression reduces *Cryphonectria parasitica*-induced necrosis in a transgenic American chestnut (*Castanea dentata*) leaf bioassay [J]. Transgenic Res, 2013, 22 (5): 973-982. DOI: 10.1007/s11248-013-9708-5.
- [114] LIANG HY, MAYNARD C A, ALLEN R D, et al. Increased *Sep-toria musiva* resistance in transgenic hybrid poplar leaves expressing a wheat oxalate oxidase gene [J]. Plant Mol Biol, 2001,

- 45(6):619-629.DOI:10.1023/A:1010631318831.
- [115] NOWARA D, GAY A, LACOMME C, et al. HIGS: host-induced gene silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis* [J]. Plant Cell, 2010, 22(9): 3130-3141. DOI: 10.1105/tpc.110.077040.
- [116] PANWAR V, MCCALLUM B, BAKKEREN G. Endogenous silencing of *Puccinia triticina* pathogenicity genes through in planta-expressed sequences leads to the suppression of rust diseases on wheat [J]. Plant J, 2013, 73(3): 521-532. DOI: 10.1111/tpj.12047.
- [117] KOCH A, KUMAR N, WEBER L, et al. Host-induced gene silencing of cytochrome P450 lanosterol C14 α -demethylase-encoding genes confers strong resistance to *Fusarium* species [J]. PNAS, 2013, 110(48): 19324-19329. DOI: 10.1073/pnas.1306373110.
- [118] ZHANG T, JIN Y, ZHAO J H, et al. Host-induced gene silencing of the target gene in fungal cells confers effective resistance to the cotton wilt disease pathogen *Verticillium dahliae* [J]. Mol Plant, 2016, 9(6): 939-942. DOI: 10.1016/j.molp.2016.02.008.
- [119] ZHAO J H, GUO H S. Trans-kingdom RNA interactions drive the evolutionary arms race between hosts and pathogens [J]. Curr Opin Genet Dev, 2019, 58/59: 62-69. DOI: 10.1016/j.gde.2019.07.019.
- [120] SU Y, LI H G, WANG Y, et al. Poplar miR472a targeting NBS-LRRs is involved in effective defence against the necrotrophic fungus *Cytospora chrysosperma* [J]. J Exp Bot, 2018, 69(22): 5519-5530. DOI: 10.1093/jxb/ery304.
- [121] ZHANG Q, LI Y, ZHANG Y, et al. Md-miR156ab and Md-miR395 target WRKY transcription factors to influence apple resistance to leaf spot disease [J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 526. DOI: 10.3389/fpls.2017.00526.
- [122] ZHANG Y, ZHANG Q, HAO L, et al. A novel miRNA negatively regulates resistance to *Glomerella* leaf spot by suppressing expression of an NBS gene in apple [J]. Hortic Res, 2019, 6: 93. DOI: 10.1038/s41438-019-0175-x.
- [123] ZHOU X, JACOBS T B, XUE L J, et al. Exploiting SNPs for biallelic CRISPR mutations in the outcrossing woody perennial *Populus* reveals 4-coumarate: CoA ligase specificity and redundancy [J]. New Phytol, 2015, 208(2): 298-301. DOI: 10.1111/nph.13470.
- [124] FAN D, LIU T, LI C, et al. Efficient CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis in *Populus* in the first generation [J]. Sci Rep, 2015, 5: 12217. DOI: 10.1038/srep12217.
- [125] LIU TT, FAN D, RAN L Y, et al. Highly efficient CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of multiple genes in *Populus* [J]. Yi Chuan, 2015, 37(10): 1044-1052. DOI: 10.16288/j.ycz.15-303.
- [126] NISHITANI C, HIRAI N, KOMORI S, et al. Efficient genome editing in apple using a CRISPR/Cas9 system [J]. Sci Rep, 2016, 6: 31481. DOI: 10.1038/srep31481.
- [127] JIA H, WANG N. Targeted genome editing of sweet orange using Cas9/sgRNA [J]. PLoS One, 2014, 9(4): e93806. DOI: 10.1371/journal.pone.0093806.
- [128] 胡春华, 邓贵明, 孙晓玄, 等. 香蕉 CRISPR/Cas9 基因编辑技术体系的建立 [J]. 中国农业科学, 2017, 50(7): 1294-1301. HU C H, DENG G M, SUN X X, et al. Establishment of an efficient CRISPR/Cas9-mediated gene editing system in banana [J]. Sci Agric Sin, 2017, 50(7): 1294-1301.
- [129] LIU R, CHEN L, JIANG Y, et al. Efficient genome editing in filamentous fungus *Trichoderma reesei* using the CRISPR/Cas9 system [J]. Cell Discov, 2015, 1: 15007. DOI: 10.1038/celldisc.2015.7.
- [130] KATAYAMA T, TANAKA Y, OKABE T, et al. Development of a genome editing technique using the CRISPR/Cas9 system in the industrial filamentous fungus *Aspergillus oryzae* [J]. Biotechnol Lett, 2016, 38(4): 637-642. DOI: 10.1007/s10529-015-2015-x.
- [131] ZHANG C, MENG X, WEI X, et al. Highly efficient CRISPR mutagenesis by microhomology-mediated end joining in *Aspergillus fumigatus* [J]. Fungal Genet Biol, 2016, 86: 47-57. DOI: 10.1016/j.fgb.2015.12.007.
- [132] ARAZOE T, MIYOSHI K, YAMATO T, et al. Tailor-made CRISPR/Cas system for highly efficient targeted gene replacement in the rice blast fungus [J]. Biotechnol Bioeng, 2015, 112(12): 2543-2549. DOI: 10.1002/bit.25662.
- [133] 郑武, 谷峰. CRISPR/Cas9 的应用及脱靶效应研究进展 [J]. 遗传, 2015, 37(10): 1003-1010. ZHENG W, GU F. Progress of application and off-target effects of CRISPR/Cas9 [J]. Hereditas, 2015, 37(10): 1003-1010. DOI: 10.16288/j.ycz.15-070.
- [134] 周燕燕, 紫玉盘内生真菌 *Arthrinium* sp. 次级代谢产物研究 [D]. 广州: 广东药学院, 2015. ZHOU Y Y. Study on secondary metabolites of endophytic fungus *Arthrinium* sp. from *Uvaria microcarpa* [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2015.
- [135] 于湘莉, 赵静雅, 张利达, 等. 楸树内生真菌抗癌性能研究 [J]. 上海医药, 2012, 33(13): 49-52. YU X L, ZHAO J Y, ZHANG L D, et al. Study on the anti-cancer activity of endophytic fungi isolated from *Juglans mandshurica* Maxim [J]. Shanghai Med Pharm J, 2012, 33(13): 49-52. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1533.2012.13.016.
- [136] 刘丽莉, 吕国忠, 孙晓东. 林木内生真菌研究进展 [J]. 菌物研究, 2006, 4(2): 54-59. LIU L L, LU G Z, SUN X D. Review of forest-endophytic fungi [J]. J Fungal Res, 2006, 4(2): 54-59. DOI: 10.13341/j.jfr.2006.02.012.
- [137] 李霞, 曹昆, 丛伟. 秤锤树叶片内生真菌的分离鉴定及其对植株生长的影响 [J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(1): 75-81. LI X, CAO K, CONG W. Isolation and identification of endophyte from leaves of *Sinojackia xylocarpa* and their effect on plant growth [J]. Genom Appl Biol, 2010, 29(1): 75-81. DOI: 10.3969/gab.029.000075.
- [138] 战妍, 王鹤鸣, 周欣, 等. 林木组织内生真菌研究及应用进展 [J]. 安徽农业科学, 2014, 42(29): 10066-10069, 10077. ZHAN Y, WANG H M, ZHOU X, et al. Research progress and application of trees endophytic fungi [J]. J Anhui Agric Sci, 2014, 42(29): 42: 10066-10069, 10077. DOI: 10.13989/j.cnki.0517-6611.2014.29.008.
- [139] 任娜. 红豆杉内生真菌遗传多样性分析及生物转化研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2011. REN N. Genetic diversity analysis and biotransformation research among endophytic fungi from *Taxus* [D]. Changsha: Central South University, 2011.
- [140] ARNOLD A E, MEJÍA L C, KYLLO D, et al. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree [J]. PNAS, 2003, 100(26): 15649-15654. DOI: 10.1073/pnas.2533483100.
- [141] 袁秀英, 白红霞, 白玉明, 等. 杨树内生真菌的分离和拮抗生防菌的筛选 [J]. 林业科学研究, 2006, 19(6): 713-717. YUAN X Y, BAI H X, BAI Y M, et al. Isolation of endophytes and screen of antagonistic strains in poplar trees [J]. For Res, 2006, 19(6): 713-717. DOI: 10.3321/j.issn: 1001-1498.2006.06.007.
- [142] BUSBY P E, PEAY K G, NEWCOMBE G. Common foliar fungi of *Populus trichocarpa* modify *Melampsora* rust disease severity [J]. New Phytol, 2016, 209(4): 1681-1692. DOI: 10.1111/nph.13742.
- [143] WANG S, GUAN Y, WANG Q, et al. A mycorrhizae-like gene regulates stem cell and gametophore development in mosses [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 2030. DOI: 10.1038/s41467-020-15967-6.
- [144] WATTS-WILLIAMS S J, EMMETT B D, LEVESQUE-TREMBLAY V, et al. Diverse *Sorghum bicolor* accessions show marked variation in growth and transcriptional responses to arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Plant Cell Environ, 2019, 42(5): 1758-1774. DOI: 10.1111/pce.13509.
- [145] MACHOA P, ZIPFEL C. Plant PRRs and the activation of innate immune signaling [J]. Mol Cell, 2014, 54(2): 263-272. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.03.028.
- [146] LÓPEZ-RÁEZ J A, SHIRASU K, FOO E. Strigolactones in plant interactions with beneficial and detrimental organisms: The Yin and Yang [J]. Trends Plant Sci, 2017, 22(6): 527-537. DOI: 10.1016/j.tplants.2017.03.011.