



## 玉米瘤黑粉菌的寄生策略及其调控机制

李智敏, 严理, 严准\*

中国农业科学院麻类研究所暨南方经济作物研究中心, 湖南 长沙 410205

**摘要:** 玉米瘤黑粉病是由担子菌*Ustilago maydis*对玉米的活体寄生所引起的真菌病害。该病原菌为双相型真菌, 需要寄生于玉米植株来完成其有性生殖过程。综合相关研究报道, 本文把*U. maydis*对寄主植物的寄生过程划分为7个阶段, 包括形成致病性双核菌丝体、附着寄主植物表面、穿透寄主表皮、消减寄主防御反应、在寄主体内菌丝增殖、使寄主瘤变和生成厚垣孢子等。围绕寄生进程特点和关键基因, 分别阐述了各个阶段的相关调控机制以及对寄主植物的致病性; 展现了*U. maydis*为达到有性生殖目的而实施步步为营的寄生策略。本文对*U. maydis*寄生过程的阶段划分, 有助于人们深入了解*U. maydis*与寄主植物之间互作机制、提供相关病害防控新思路。

**关键词:** *Ustilago maydis*, 玉米瘤黑粉病, 寄生, 致病, 调控机制

玉米瘤黑粉菌(*Ustilago maydis*)属于担子菌, 是引发玉米瘤黑粉病的病原真菌。它入侵玉米植株后导致寄主组织瘤变, 并在其中完成有性生殖过程。*U. maydis*对玉米的寄生过程并不导致寄主植株死亡; 因此, 它被作为模式微生物用于研究活体寄生真菌与植物的互作机制<sup>[1]</sup>。*U. maydis*是双相型真菌, 在自然界中其生命周期分为单倍体孢子和双核菌丝体两个阶段。单倍体孢子具有腐生性, 可以像酵母菌一样进行细胞分裂实现无性繁殖; 而双核菌丝体是进入活体寄生、实现有性生殖的生长状态。从植物病害的角度看, *U. maydis*的有性生长过程就是对寄主植物的致病过程。

*U. maydis*需要成功寄生于寄主植物体内才能

实现有性生殖。寄生行为开始时, 酵母状担孢子接受寄主植物表面信号后萌发成初级菌丝(单倍体); 两种异质的初级菌丝进而交配形成双核菌丝体, 随后菌丝顶端产生附着胞牢固的附着于植物表皮(如图1-D)。这一过程大约需要12 hpi (Hour post-infection, 侵染后的小时数)。随后大约需要24 hpi, 附着胞完成对寄主表皮的穿透(图1-E)。在约2 dpi时(Day post-infection, 侵染后的天数)菌丝在寄主细胞间隙中增长(图1-F, 寄主细胞间隙的绿色部分为菌丝), 到4 dpi时寄主受侵染部位细胞开始膨大, 组织出现瘤变(图1-G, 寄主细胞膨大变形)。

约8 dpi时寄主组织瘤变扩大, 寄主细胞间出

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2015-IBFC09); 农业部“作物病虫鼠害疫情监测与防治项目”(S158)

\*通信作者。Tel: +86-731-88998529; E-mail: yanzhuntooronto@gmail.com

收稿日期: 2015-11-22; 修回日期: 2016-01-26; 网络出版日期: 2016-03-10

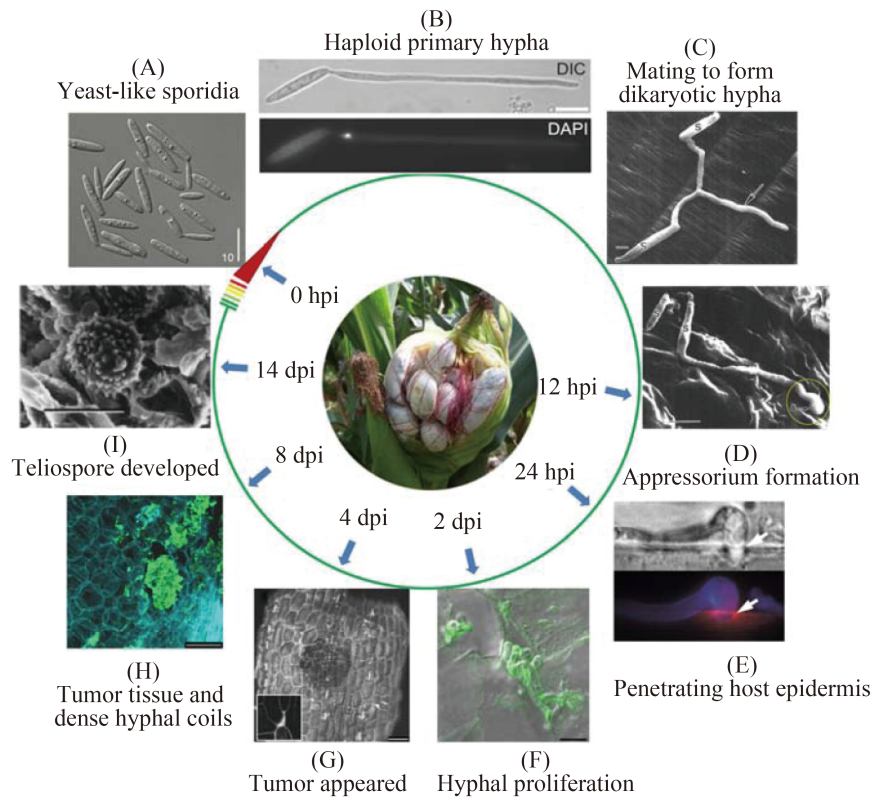


图 1. *U. maydis*的活体寄生过程<sup>[2-6]</sup>

Figure 1. The biotrophic parasitism course of *U. maydis*<sup>[2-6]</sup>. DIC, differential interference contrast microscopy; DAPI, DAPI stained for fluorescent microscope analysis; hpi, hour post infected by *U. maydis*; dpi, day post infected by *U. maydis*.

现大量成团的造孢菌丝(图1-H, 绿色菌丝团为造孢菌丝)。大约14 dpi时厚垣孢子(也叫冬孢子, Teliospore)发育成熟, 如图1<sup>[2-6]</sup>子图-I中表面刺状的圆球体。当寄主瘤组织破裂后厚垣孢子散到外界, 完成生命周期。在外界环境条件合适的情况下, 厚垣孢子萌发长出新的酵母状担孢子, 便可以进入新一轮生命周期。归纳众多相关研究结果可以发现, 一些关键基因的缺失一般会导致*U. maydis*的寄生进程停滞在某一阶段而难以进入下一个阶段。因此, 根据进程和基因调控特点我们大体将*U. maydis*的生命周期分为7个阶段: 形成致病性双核菌丝体、附着于植物表面、穿透寄主表皮、消减寄主防御反应、寄主体内菌丝增殖、使寄主瘤变和生成厚垣孢子等。本文着重阐述*U.*

*maydis*寄生过程各个关键阶段的调控机制以及对植物的致病性, 从中反映出*U. maydis*对植物活体营养寄生过程的一整套策略。

## 1 致病性双核菌丝体

*U. maydis*由酵母状担孢子转变成双核菌丝后才具有对植物的活体寄生能力, 即对植物的致病性。这一转变过程受四极性交配型系统的a、b两个等位基因位点控制, 其中a位点控制担孢子交配而b位点决定双核菌丝的致病性<sup>[7-8]</sup>。酵母状担孢子在接受植物表面的羟基脂肪酸信息素分子后发育成单核初级菌丝并完成交配; 而在缺少羟基脂肪酸的表面上, 孢子无法发育成菌丝<sup>[9-10]</sup>。接受植物信号后, 菌丝交配行为受a位点的2种不同基因

型(a1和a2)控制。a位点上的1个基因编码蛋白Mfa(a1和a2基因型分别编码Mfa1和Mfa2)负责生成脂肽素;还有1个基因编码相应脂肽素的受体蛋白Pra(Pra1和Pra2)。不同基因型孢子之间依靠受体蛋白Pra来相互识别对方的脂肽素,从而启动菌丝发育和交配<sup>[11-12]</sup>。而另一个等位基因位点b的不同基因型(bE/bW)控制了双核菌丝体的致病性。担孢子交配信号通过MAP类激酶Kpp2、Kpp4调控下游b位点相关基因的表达,双核菌丝体则进入了致病性发育阶段<sup>[13]</sup>。异质性bE/bW主要通过*rbf1*基因调控下游超过340个基因的复杂网络,控制着致病过程<sup>[5,14]</sup>。致病性双核菌丝的形成拉开了*U. maydis*入侵植物的序幕。

## 2 附着于植物表面

当双核菌丝体顶端形成附着胞后菌丝才能侵入到寄主植物体内。相关实验证明,寄主植物疏水性表面是诱使该结构形成的必要条件,在非疏水性表面上的双核菌丝则难以形成附着胞,菌丝无法侵入寄主内部<sup>[9,15]</sup>。因此,附着胞是*U. maydis*入侵植物表皮细胞的特殊结构,而寄主表面信号诱导了该结构的形成。*U. maydis*中的*sho1*和*msb2*两个基因编码的蛋白可能是识别植物疏水性表面的感受器,负责将植物表面信号通过MAP类激酶Kpp6传递给下游基因,影响了菌体内约20%基因的表达。该信号通路激活了转录因子*biz1*和*hdp2*从而促进菌丝形成附着胞和致病能力;缺失*biz1*或*hdp2*基因都会阻碍附着胞的形成<sup>[15-16]</sup>。而激发Map途径可以绕过植物表面信号<sup>[9]</sup>,这也暗示了菌体与植物之间存在该信号通路。编码O-甘露糖基转移酶基因*pmt4*在附着胞的形成过程中也具有关键性作用,缺失*pmt4*基因导致双核菌丝顶端附着胞的形成量显著减少。实验证据表明,Pmt4可能通过对Msb2蛋白进行O-甘露糖基化进而激活后者的活性,促进了附着胞的形成<sup>[17]</sup>。

在形成附着胞的牢固附着之前,*U. maydis*可能通过分泌一些化学物质来辅助菌体粘贴在寄主植物光滑的疏水性表面上。研究表明,在*U. maydis*的分泌物中含有大量的甘露赤藓糖醇脂(MELs)和黑粉菌酸(Ustilago acid);这些物质具有表面活性,有利于菌体本身对植物疏水性表面的附着;这一表面活性还可以屏蔽其他一些病菌对植物的侵染<sup>[18-21]</sup>。*U. maydis*中的MELs合成途径由糖基转移酶基因*emt1*、脂肪酸羟化酶相关的*mac1*和*mac2*基因以及乙酰化*mat1*等基因调控<sup>[22]</sup>。虽然将这一合成途径的相关突变体菌株用针管注射到玉米植株中,其致病性与野生菌株没有明显区别<sup>[23]</sup>;但是,针管注射的接种方式是直接把病菌送入植物体内,绕过了从植物外表面侵染的步骤,因此无法反映病菌附着和入侵植物表皮的初始过程。尽管目前的*U. maydis*研究中还没有直接的实验数据指明这些分泌物与附着的关系,但此类表面活性剂对植物疏水性表面的粘附作用是比较常见的<sup>[24-25]</sup>。因此,甘露赤藓糖醇脂和黑粉菌酸等分泌物可能在菌体附着和侵染植物表面的过程中具有重要的辅助作用<sup>[26]</sup>。

## 3 穿透寄主植物表皮

*U. maydis*的一些基因突变菌株虽然可以形成附着胞,但无法穿透寄主植物表皮。这说明即使双核菌丝形成了附着胞也并不一定就能入侵到植物内部,菌丝穿透寄主表皮的过程受到其它基因调控。MAP类激酶基因*kpp6*的非活性突变*kpp6*<sup>T355A,Y357F</sup>菌株虽然能形成附着胞,但穿透植物表皮的成功率显著降低<sup>[27]</sup>,这是导致*kpp6*基因突变体菌株致病力减弱的一个重要原因。由此推断,*kpp6*在植物表面信号转导和植物表皮穿透等方面起重要作用,对病菌的致病力调控有重要影响。基因簇5B(Cluster 5B)缺失的菌株同样能形成附着胞,但无法完成穿透植物表皮细胞的过程;

而异位表达其中2个未知功能基因*um02472*和*um02476*可以弥补这一缺陷<sup>[6]</sup>。从基因功能方面预测(<http://pedant.helmholtz-muenchen.de>):*um02472*蛋白产物具有与RNA结合的结构域,可能与下游基因的转录后调控有关;而*um02476*编码的蛋白可能参与细胞内囊泡的物质运输;暗示着这些途径可能参与了穿透过程。*pep1*基因编码的是一个分泌型蛋白,该基因缺失也能发生类似的现象:附着胞无法穿透植物表皮细胞,并引起强烈的植物防御反应<sup>[28]</sup>。因此,虽然附着胞的形成是菌丝穿透寄主表皮的前提条件,但还需要其他调控来参与完成穿透过程。

*U. maydis*菌丝可能并不像有些植物病菌那样通过溶解植物细胞壁的方式来穿透寄主植物表皮,但相关机制至今仍不清楚。在对*U. maydis*入侵植物表皮的形态研究中,往往观察到的是菌丝形成附着胞后直接穿透植物表皮细胞<sup>[3]</sup>。虽然有人猜测这一过程可能需要细胞壁降解酶的协助,但并无确切的证据支持这一观点。而基因组测序分析结果也表明,*U. maydis*并不像其它侵袭性病原真菌那样含有1组典型的细胞壁降解酶;因此它可能不是通过此类方式入侵寄主<sup>[6]</sup>。而且,*U. maydis*基因组中含有的可能与植物细胞壁降解有关的3个果胶酶基因,通过缺失实验验证也说明了这些基因对*U. maydis*的致病性并非是必要的<sup>[2]</sup>。这些都暗示了穿透寄主植物表皮的过程并非通过降解细胞壁。有的研究认为,真菌附着胞一般依靠形成强大的膨胀压力和渗透压等来穿透植物表皮细胞<sup>[17,29]</sup>。然而,至今还没有实验数据说明类似的膨胀压力或渗透压力与*U. maydis*穿透寄主表皮有关。因此,上述的分子调控机理与“穿透力”之间的关系仍有待阐明。

#### 4 消减寄主防御反应

植物除了用表皮特殊结构对病原菌进行隔绝

防护之外,内部的防御系统发挥了进一步的保护作用<sup>[30-31]</sup>。因此,*U. maydis*的附着胞穿透植物表皮后菌丝并非就能顺利的寄生于植物体内。研究证明,在*U. maydis*附着胞穿透植物表皮的过程中会引起植物强烈的防御反应<sup>[28]</sup>。为了成功寄生于寄主植物,*U. maydis*进化出一些有效的进攻策略来应对寄主的防御反应系统。目前的研究数据说明,*U. maydis*可以通过削弱植物体内的氧化猝发反应(Oxidative burst)和水杨酸介导的抗性途径来阻挠寄主的防御反应。

氧化猝发是植物的早期防御反应。为应对这一反应,*U. maydis*菌丝穿透植物表皮后分泌出的Pep1蛋白效应子,直接结合到寄主植物的过氧化物酶POX12上抑制了其活性,有效地阻止植物体内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的产生,削弱了寄主氧化猝发反应<sup>[32]</sup>。而缺失*pep1*基因的菌体会引发寄主植物氧化猝发现象,寄主细胞壁出现大量的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累<sup>[28,32]</sup>。因此在入侵植物的初始阶段,通过分泌型蛋白Pep1来阻断寄主的氧化猝发途径是*U. maydis*能成功寄生的有效进攻策略。为充分应对植物的氧化猝发,*U. maydis*还有其他的控制方法。比如,转录因子*yap1*可以响应植物体内较低浓度(并非氧化猝发的浓度)的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>信号,通过调整下游约212个基因的调控网络来应对植物可能发生的氧化猝发反应。对于缺失*yap1*基因的菌株,在体外培养时其对培养基中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的耐受性显著降低,而且在植物活体寄生时菌丝周围的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度明显高于野生菌株,致病力明显减弱。实验证明,*U. maydis*菌丝可通过*yap1*调整自身ROS(Reactive oxygen species)途径中的过氧化物酶表达来清除和适应周围的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>[33]</sup>。此外,转录因子*fox1*基因也可以响应H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>信号并影响下游141个基因的表达,包括6个分泌型蛋白基因表达被下调(但不包括*pep1*)。*fox1*缺失的菌株入侵植物时也可以引起周围寄主表皮细胞H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>大量积累,而菌丝内部的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>也有所增加,该菌株的致病力显著减弱;然而该基因

的具体功能尚未阐明<sup>[34]</sup>。*pep1*主要是阻断H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的产生, *yap1*启动清除H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的反应, 而*fox1*则是调控未知的途径来避免H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累; 但目前并不清楚它们之间是否有直接联系、是否协同应对寄主的氧化猝发反应。

水杨酸介导的抗性途径是植物防御系统的重要组成部分。为削弱寄主植物的这一抗性途径, 入侵植物表皮的*U. maydis*菌丝将分支酸变位酶蛋白Cmu1分泌到植物细胞中, 将植物细胞内的水杨酸前体物质分支酸转变成预苯酸进入芳香族氨基酸(苯丙氨酸和酪氨酸)的合成途径, 从而减弱了水杨酸信号; *cmu1*基因缺失的菌株致病力减弱, 寄主受侵染组织瘤的形成显著减少<sup>[35]</sup>。植物非原质体(Apoplast)中的半胱氨酸蛋白酶是水杨酸信号途径中重要的酶<sup>[36]</sup>, *U. maydis*另一个分泌蛋白Pit2可以结合抑制寄主中的半胱氨酸蛋白酶CP2的活性来削弱水杨酸信号途径。敲除*pit2*基因的突变体虽然能完成对寄主表皮的穿透过程但会引起寄主强烈的防御反应, 菌丝在植物体内的增殖受到抑制、致病力明显减弱<sup>[37]</sup>。入侵寄主后菌丝中的*umi2*基因表达量显著上调, 而寄主水杨酸途径*PR-1*基因的表达量相应的被下调。*umi2*可能通过调控寄主*PR-1*基因的表达来影响寄主水杨酸途径, 并影响寄主次生代谢物异羟肟酸的合成途径<sup>[38]</sup>。*U. maydis*还可以通过*shy1*基因编码的水杨酸羟化酶对寄主中已有的水杨酸进行羟化后作为营养物质进入菌丝的代谢途径; 既消除了寄主的水杨酸信号物又使得水杨酸作为底物被菌丝利用<sup>[39]</sup>。这些说明, *U. maydis*对寄主水杨酸介导的抗性途径具有充分的应对策略, 这是保证菌丝在植物体内正常生长的重要环节。

## 5 在寄主中寄生增殖

附着、穿透和阻击寄主防御系统, 这些前期步骤都是为了能够让菌丝在植物体内正常生长做

铺垫。活体寄生过程中, *U. maydis*菌丝需要吸收利用寄主体内的营养才能增殖生长。为此, *U. maydis*在入侵植物表皮后对寄主的营养物质代谢进行重新编程和调整, 以满足自己的营养需求<sup>[40]</sup>。在入侵初期寄主受感染部位的蔗糖浓度会减少, 这可能是菌丝对寄主现有糖源直接利用的结果; 而在后期菌丝大量生长的寄主瘤变组织内, 己糖、蔗糖和淀粉的含量有显著提高, 这可能是寄主代谢被*U. maydis*重新编程后提供的营养<sup>[40]</sup>。吸收寄主营养物质的能力是菌株致病力的一种表现; 因此, 糖类运输能力往往与菌丝的生长量和致病力呈正相关性。*U. maydis*的蔗糖转运蛋白Srt1位于菌丝质膜上、对蔗糖具有特异的高亲和性。因此, 它可以直接利用寄主体内的蔗糖而不需要进一步分解成单糖。该基因突变可导致菌丝生长量减少、寄主瘤变量减少, 寄主整体病症显著减轻<sup>[41]</sup>。另一个糖类转运蛋白Hxt1对葡萄糖和果糖具有高亲和性, 在活体寄生阶段负责吸收寄主中的葡萄糖; 缺失这一基因也会导致菌丝生长量减少、致病力减弱<sup>[42]</sup>。缺失*hxt1*基因会显著影响基因簇1-3中多个基因的表达, 这暗示它可能衔接了生长环境信号和菌丝增长之间的调控。*hxt1*和*srt1*双基因突变比单基因突变的菌株菌丝生长量更低、致病力更弱<sup>[42]</sup>。另外, 缺失内质网葡萄糖苷酶基因*gas1*的菌丝虽然能穿透植物表皮第一层细胞, 但随后菌丝无法进行分裂、寄主病症不明显<sup>[43]</sup>; 这暗示了菌体内的糖代谢也参与了菌丝增殖的相关调控。由此可见, 对寄主体内糖源的吸收和利用情况能显著影响寄生菌丝的增殖和致病力。

*U. maydis*的一些基因突变与糖类的利用无直接关系, 这类突变菌株既能穿透植物表皮也不引起明显的植物防御反应, 但入侵寄主后菌丝生长却受到严重影响。比如, 转录因子*clp1*基因突变会导致菌丝的生长停滞在穿透寄主表皮之后和进入第2次菌丝分裂之前的状态<sup>[44]</sup>。实验证明, Clp1蛋白与菌株毒性控制有关的bW位点相结合,

通过对细胞周期G2期的调控来影响细胞增长<sup>[45]</sup>。可见双核菌丝的细胞周期调控与酵母状孢子的细胞周期调控有所差异，双核菌丝的细胞周期调控控制着与毒力有关的菌丝生长。早期控制单倍体初级菌丝交配的基因，在随后的寄生双核菌丝生长过程中仍可能发挥调控作用。比如位于a2位点上的*lga2*基因在单倍体初级菌丝交配过程中调控线粒体的融合，而在活体寄生阶段则可能起到抑制双核菌丝生长的作用。为解除这一抑制，线粒体蛋白Mrb1在寄生时期通过直接结合抑制Lga2的活性来促进菌丝生长。*mrbl*突变会导致寄生菌丝生长量和寄主组织的瘤变量显著减少，而叠加上*lga2*突变后可以很大程度地恢复*mrbl*突变菌株的致病力<sup>[46]</sup>。基因簇19A的基因产物中有24个分泌性蛋白，缺失19A的突变体在活体寄生阶段的菌丝量明显减少，表现出菌株毒力降低<sup>[47]</sup>。该基因簇中*tin2*基因编码的是一个分泌蛋白，对寄主花青素合成途径关键蛋白酶ZmTTK的泛素化位点具有屏蔽作用，使得寄主花青素的合成增强。这一作用可防止寄主受感染部位呈木质化，一方面使寄主的营养物质运输通畅有利于菌丝利用；另一方面非木质化的寄主组织有利于菌丝增殖扩张<sup>[48]</sup>。此外，同属于一个基因簇的*mig*类基因(*mig2-1*, *mig2-5*)，它们在酵母状担孢子时期没有表达，但在进入活体寄生的时候出现了高表达。虽然这些基因的缺失对菌株毒性似乎没有影响，但在野生菌株中它们的表达被看作活体寄生阶段的标志<sup>[49-50]</sup>。活体寄生阶段的菌丝增殖涉及了多方面的分子调控，而菌丝生长的好坏往往影响后续瘤变和致病的程度。

## 6 使寄主组织瘤变

发生瘤变是寄主受侵染部位如韧皮部、薄壁和厚壁组织等细胞的快速增大和增殖的结果，同时也是*U. maydis*寄生菌丝在寄主细胞间隙不断增长、由营养生长向有性生殖转变的外部表现<sup>[51-53]</sup>。

虽然很多研究数据显示活体寄生阶段*U. maydis*菌丝的生长量往往与寄主组织成瘤量有关，但是菌丝生长只是寄主组织瘤变的前提条件，导致寄主瘤变的调控与菌丝生长的调控有所区别。有些基因突变虽然使菌丝生长量减少但仍会使寄主形成瘤；而有些基因突变除了菌丝生长量减少外无法使寄主组织成瘤。例如上文提到的基因簇19A，删除该基因簇除了会减少菌丝生长量之外还导致无法形成瘤。实验证明，这基因簇中有几个基因共同调控促使寄主组织成瘤<sup>[47]</sup>。*U. maydis*对寄主瘤变的调控有正、负两方面。cAMP信号途径属于正调控，它与菌丝生长量和寄主的成瘤量呈正相关；该途径上的无效突变都可能导致菌丝停滞在造孢菌丝阶段而无法形成瘤<sup>[54]</sup>。Ubc1蛋白作为一个酶亚基调控PKA激酶的活性，参与到cAMP信号途径中；缺失*ubc1*基因的菌丝无法使寄主发生瘤变<sup>[55-56]</sup>。cAMP信号途径中的另一个基因*ukc1*突变后菌丝同样无法使寄主成瘤<sup>[57]</sup>。这些说明了*U. maydis*中的cAMP信号途径在促使寄主瘤变过程中发挥了重要的调控作用。此外，还有的基因突变菌株触发了寄主的防御反应导致菌丝生长量减少，并且无法使寄主组织形成瘤。例如，定位于菌丝顶端的膜蛋白Pit1在菌丝入侵植物表皮过程中能触发寄主发生防御反应；而分泌型蛋白Pit2能抑制水杨酸信号途径；而这2个基因同时突变会使寄生菌丝减少且最终不产生瘤<sup>[37,58]</sup>。在瘤变的负调控方面，有的基因表达似乎是为了防止菌体发生不当的致瘤调控。比如，*U. maydis*中的*rtf1*基因隐性突变可以绕过致病性b位点的调控，致使寄主过早发生瘤变<sup>[59]</sup>。还有，缺失基因簇2A会使菌丝致病力增强，寄主瘤变量增加、瘤的尺寸增大<sup>[6]</sup>。可见，*U. maydis*对寄主的致瘤过程具有严谨的控制机制，正负调控基因协同控制了该过程。

*U. maydis*菌丝对寄主不同器官组织的致瘤效果不同，这涉及到菌丝与寄主器官的特异性互

作<sup>[60]</sup>。在寄主叶片中, 菌丝可以通过分泌See1蛋白来激活寄主的SGT1蛋白, 从而促进寄主叶片细胞DNA的合成来加快细胞增长、组织瘤变; 在其它器官中似乎无此过程<sup>[61]</sup>。19A是使寄主瘤变不可缺少的一个基因簇, 而其中各个基因在寄主不同器官瘤组织中的表达模式有所不同; 该基因簇中的*tin3*基因与寄主营养器官的成瘤有关, 而与果穗的瘤变无关<sup>[47]</sup>。在玉米植株中表达真菌抗性蛋白KP4可以有效的减弱*U. maydis*对玉米茎和穗的毒力, 避免了这些器官发生瘤变, 但叶片仍会形成瘤<sup>[62]</sup>。另外, 通过突变体和基因表达研究发现, *um06223*和*um12217*与叶子和果穗的致病及瘤变有关, 而*um01690*, *um01829*, *um02239*, *um05306*, *um05311*, *um05318*和*um11060*等7个基因与叶子病变成瘤有关<sup>[63]</sup>。这些说明, 虽然*U. maydis*均能导致玉米地上器官发病成瘤, 但针对寄主特化的不同器官具有不同的控制策略, 涉及不同的基因调控。寄主组织瘤变是*U. maydis*对寄主细胞增殖调控进行重编程的结果<sup>[53]</sup>。

## 7 生成厚垣孢子

在寄主瘤变部位*U. maydis*菌丝由营养生长逐渐向有性生殖转变, 最终产生厚垣孢子<sup>[6]</sup>。寄主组织瘤变往往是*U. maydis*产生厚垣孢子的前期表象, 但并非瘤变后就能形成孢子, 这一有性生殖过程受到一些特定基因的调控。研究发现, 一些突变菌株虽然能在寄主细胞间大量增殖菌丝并使寄主发生瘤变, 但最终却无法产生孢子。*gpa3*的基因产物是一个可调控G蛋白活性的 $\alpha$ 亚基, 作用于cAMP信号通路的上游<sup>[64]</sup>; *gpa3*基因缺失的菌株可以使寄主产生瘤, 但瘤组织内菌丝生长量减少且无法产生厚垣孢子<sup>[54]</sup>。而在cAMP信号通路中位于激酶A(PKA)下游的*hgl1*基因同样具有促进孢子发育的功能, 因为该基因突变后菌丝同样无法产生孢子<sup>[65]</sup>。同处于cAMP信号途径下游的*ssp1*基因

也具有动员脂类积累促进孢子成熟的作用<sup>[66]</sup>。由此可见, cAMP信号途径除了参与寄主瘤变调控之外, 在孢子的发育过程中同样发挥着重要作用。还有一些基因也与孢子的形成有关, 比如*rum1*基因突变导致b位点中的几个基因表达量上调并使菌丝停滞在造孢菌丝发育阶段无法产生孢子, 因此该基因可能通过抑制b位点的一些基因表达来促进孢子的形成<sup>[4]</sup>。缺失*umv1*基因也会导致菌丝增长受到影响且发育停滞在孢子形成之前<sup>[67]</sup>。同样, 缺失基因簇19A除了影响瘤的形成之外还会导致后期菌丝最终无法产生孢子, 这是由于该基因簇中有15个基因与孢子形成有关<sup>[6]</sup>。这些正调控基因促进了*U. maydis*有性孢子的形成。

另一方面, 一些负调控基因可能在菌丝营养生长和生殖生长之间的隔离调控中起到开关性的作用。*hda1*基因具有组蛋白脱乙酰化的作用, 能抑制*mig1*(菌丝生长期的标志性基因)的表达<sup>[68]</sup>; 缺失*hda1*基因的菌丝能在寄主中正常增长也能使寄主组织瘤变, 但无法发育出孢子<sup>[69]</sup>。这暗示了*hda1*基因的表达可能是结束菌丝营养生长转入有性生殖的重要调控。*ust1*基因对上述正调控基因*ssp1*具有抑制表达的作用; 敲除*ust1*基因使体外培养的菌株很快形成类似孢子囊的结构<sup>[70-71]</sup>。*ust1*基因的负调控作用可能限制了*U. maydis*只能在恰当的时间才会产生有性孢子。因此, 控制菌丝何时结束营养生长转入生殖生长并产生有性孢子, 是*U. maydis*能产生有性世代的关键。在寄主瘤组织中成熟厚垣孢子的形成代表了*U. maydis*在植物中的整个活体寄生过程临近终结。虽然孢子成熟后寄主瘤组织的破裂和孢子释放可能还需要一些溶壁酶的相关基因参与调控<sup>[72]</sup>, 但从生命过程上看, 成熟孢子的形成代表了下一个从孢子开始的生命周期已经开始。因此, 我们把生成厚垣孢子的相关调控作为*U. maydis*生命周期的最后一个调控阶段。*U. maydis*活体寄生过程的各阶段特点及关键调控基因如表1所示。

表1. 玉米瘤黑粉菌活体寄生阶段特点及关键调控基因

Table 1. Characteristics and key regulatory genes of stages of *Ustilago maydis* biotrophic parasitism

Parasitic stage	Main character	Host plant symptoms	Key regulatory genes	References
Dikaryotic hyphae	Induced by host plant signal, heterogeneity yeast-like sporidia mating to form dikaryotic hyphae	No symptom	a loci, b loci; <i>mfa1</i> , <i>mfa2</i> , <i>pra1</i> , <i>pra2</i> , <i>Kpp2</i> , <i>Kpp4</i> , <i>rbf1</i>	[5], [7–14]
Attachment	Appressorium formation at the tip of dikaryotic hyphae and attachment tightly to host plant surface	Not obvious symptom	<i>sho1</i> , <i>msb2</i> , <i>pmt4</i>	[9], [15–16]
Penetration	Appressorium penetration into the host epidermal cell	No obvious symptoms external but defense reaction appeared internal	Cluster 5B; <i>kpp6</i> , <i>pep1</i> , <i>um02472</i> , <i>um02476</i>	[6], [27–28]
Weakening the defense reactions of host plant	The effectors secreted to weaken the defense response pathways in host plant	Color change in the infected site, yellow (in leaf)	<i>pep1</i> , <i>yap1</i> , <i>fox1</i> , <i>cmu1</i> , <i>pit2</i> , <i>umi2</i> , <i>shy1</i>	[28], [32–39]
Hyphal proliferation	Dikaryotic hyphae grow fast, mainly in host intercellular space	Tissue in the infection site began to deform and expand	Cluster 19A; <i>mig2</i> family; <i>srt1</i> , <i>hxt1</i> , <i>gas1</i> , <i>clp1</i> , <i>lga2</i> , <i>mrb1</i> , <i>tin2</i>	[41–50]
Induction tumor	Tumor induced in host tissue	Infected tissue enlarged significantly: the cells expansion, proliferation and intercellular space increased.	Cluster 19A, Cluster 2A; cAMP pathway; <i>ubc1</i> , <i>ukc1</i> , <i>pit1</i> , <i>pit2</i> , <i>rtf1</i> , <i>see1</i> , <i>tin3</i>	[6], [47], [54–59], [61]
Formation of teliospore	Teliospore developed	The color of tumor tissue changed from light to deep (pale to dark in ear)	Cluster 19A; cAMP pathway; <i>gpa3</i> , <i>hgl1</i> , <i>ssp1</i> , <i>rum1</i> , <i>umv1</i> , <i>hda1</i> , <i>ust1</i>	[4], [6], [54], [64–71]

## 8 结语

*U. maydis*对玉米的活体寄生过程是其生命周期中最重要的内容，尽管我们人为的将这一过程划分成7个阶段，但这些阶段之间的调控并非是完全的分开。为应对两个紧密相关的事件，*U. maydis*可能会在基因调控上表现出连贯性。例如，双核菌丝对寄主表皮的穿透往往会引起寄主防御反应，而*pep1*基因既参与对寄主表皮的穿透过程也参与对寄主防御反应的抑制，从而1个基因贯穿了这2个事件间的调控。一些基因参与了不同寄生阶段的调控，但在不同阶段可能具有不同的功能；这也反映了不同阶段间的内在调控机制是不可分割的。例如*hgl1*基因在早期可以抑制酵母状孢子的出芽，而在寄生时期则促使菌丝由营养生长向生殖生长转变、促进孢子形成<sup>[65]</sup>；*ust1*对酵母状孢子向初级菌丝的发育有促进作用，

而在活体寄生期的双核菌丝中则可能有抑制厚垣孢子过早形成的调控功能<sup>[70]</sup>。同样，涉及多个基因的基因簇和信号通路(如19A基因簇和cAMP信号通路)也会参与到多个阶段的调控中，但往往涉及的基因有所差异。由此可见，*U. maydis*整个生命周期的基因调控是错综复杂的。解剖形态和内在分子调控机制之间的联系是人们理解和掌控*U. maydis*活体寄生过程的关键。比如，寄生过程中菌丝的大量增殖和寄主组织瘤变似乎是相伴相随、密不可分的现象，但在解剖形态上两者是有区分的。菌丝增殖一般是在寄主瘤变部位的细胞间隙中生长，而寄主瘤变则是被感染部位的寄主自身细胞快速增大和分裂的结果。但是*U. maydis*使寄主瘤变的目的是什么，是否令寄主瘤变后更有利于提供菌丝增殖所需要的营养成分？寄主的瘤变和代谢重编程之间是否有关？还有，



附着胞穿透寄主表皮后为了使菌丝顺利增殖,除了应对寄主氧化猝发和水杨酸途径外,是否还涉及其他防御反应?这些相关调控机制还有待进一步研究。

从无性繁殖发展到有性生殖是生物从低级向高级进化的结果,是生物加快对环境适应性的进化策略,真菌也是如此<sup>[73]</sup>。双相型真菌*U. maydis*只有通过活体寄生于玉米寄主中才能完成减数分裂实现有性生殖,由此可见,寄生过程是*U. maydis*进化的重要环节。为实现有性生殖这一目标,*U. maydis*发展出一套完整的应对策略以解决在寄生过程中遇到的种种问题:包括酵母状担孢子如何识别寄主信号进而转入菌丝发育阶段,如何穿透寄主表皮屏障,如何避开寄主防御系统,如何获取寄主营养来增殖并最终产生有性生殖的孢子等等。上述7个阶段中,有的步骤之间看似有直接的因果关系、在发育进程上是分不开的;然而这些因果之间,这“因”并非产生这“果”的充分必要条件。比如引起寄主防御反应的结果是导致寄生菌丝生长量减少;而有的突变能成功入侵寄主内部虽然不引起寄主防御反应,但菌丝的生长量却受限<sup>[45]</sup>。因此,本文划分的每个阶段都具有一定的独立特征。

尽管*U. maydis*对玉米活体寄生过程的很多调控机制仍是未解之谜,但从上述7个阶段的调控特点来看还是可以给相关病害的防控提供一些思路。比如,在摸清当地产区玉米瘤黑粉病的发病时间基础上,依据*U. maydis*活体寄生的时间进程特点,估算在病原菌尚未形成双核菌丝之前用真菌杀菌剂进行喷洒作物植株表面,可达到预防效果。另外,寄主表面的羟基脂肪酸等物质是诱使*U. maydis*担孢子交配的关键信息素分子,因此研发清除寄主表面信息素物质或阻断*U. maydis*担孢子接收信息素分子的专性药物可能是预防该病菌侵染的有效手段。隔绝病菌与寄主疏水性表面的接触也可能是预防病菌侵染寄主植物的有效方

法。一旦病菌入侵到寄主植物体内后,寄主本身有效的防御机制可能才是抵御病害的关键途径;因此选育相关抗性玉米品种是绿色防控的首选办法。由于玉米瘤黑粉菌往往通过分泌出效应子来干扰作物植株体内的防御系统以实现寄生,因此抗性品种的选择可以考虑反干扰病菌效应子功能或干扰病菌效应子分泌等。基因工程育种可能将在这方面发挥重要作用。我们希望通过本综述有助于人们了解*U. maydis*与玉米寄主之间的互作机制,并为相关病害的防控研究提供新思路。

## 参考文献

- [1] Bölker M. *Ustilago maydis*—a valuable model system for the study of fungal dimorphism and virulence. *Microbiology*, 2001, 147(6): 1395–1401.
- [2] Doehlemann G, Wahl R, Vranes M, de Vries R P, Kämper J, Kahmann R. Establishment of compatibility in the *Ustilago maydis*/maize pathosystem. *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165(1): 29–40.
- [3] Snetselaar KM, Mims CW. Infection of maize stigmas by *Ustilago maydis*: light and electron microscopy. *Phytopathology*, 1993, 83(8): 843–850.
- [4] Quadbeck-Seeger C, Wanner G, Huber S, Kahmann R, Kämper J. A protein with similarity to the human retinoblastoma binding protein 2 acts specifically as a repressor for genes regulated by the b mating type locus in *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology*, 2000, 38(1): 154–166.
- [5] Heimel K, Scherer M, Vranes M, Wahl R, Pothiratana C, Schuler D, Vincon V, Finkernagel F, Flor-Parra I, Kämper J. The transcription factor Rbfl is the master regulator for b-mating type controlled pathogenic development in *Ustilago maydis*. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(8): e1001035.
- [6] Kämper J, Kahmann R, Bölker M, Ma LJ, Brefort T, Saville BJ, Banuett F, Kronstad JW, Gold SE, Müller O, Perlin MH, Wösten HAB, de Vries R, Ruiz-Herrera J, Reynaga-Peña CG, Snetselaar K, McCann M, Pérez-Martín J, Feldbrügge M, Basse CW, Steinberg G, Ibeas JI, Holloman W, Guzman P, Farman M, Stajich JE, Sentandreu R, González-Prieto JM, Kennell JC, Molina L, Schirawski J, Mendoza-Mendoza A, Greilinger D, Münch K, Rössel N, Scherer M, Vraneš M, Ladendorff O,

- Vincon V, Fuchs U, Sandrock B, Meng SW, Ho ECH, Cahill MJ, Boyce KJ, Klose J, Klosterman SJ, Deelstra HJ, Ortiz-Castellanos L, Li WX, Sanchez-Alonso P, Schreier PH, Häuser-Hahn I, Vaupel M, Koopmann E, Friedrich G, Voss H, Schlüter T, Margolis J, Platt D, Swimmer C, Gnirke A, Chen F, Vysotskaia V, Mannhaupt G, Güldener U, Münsterkötter M, Haase D, Oesterheld M, Mewes HW, Mauceli EW, DeCaprio D, Wade CM, Butler J, Young S, Jaffe DB, Calvo S, Nusbaum C, Galagan J, Birren BW. Insights from the genome of the biotrophic fungal plant pathogen *Ustilago maydis*. *Nature*, 2006, 444(7115): 97–101.
- [ 7 ] Xu JP, Wang PF. Mitochondrial inheritance in basidiomycete fungi. *Fungal Biology Reviews*, 2015, 29(3/4): 209–219.
- [ 8 ] Feldbrügge M, Kämper J, Steinberg G, Kahmann R. Regulation of mating and pathogenic development in *Ustilago maydis*. *Current Opinion in Microbiology*, 2004, 7(6): 666–672.
- [ 9 ] Mendoza-Mendoza A, Berndt P, Djamei A, Weise C, Linne U, Marahiel M, Vraneš M, Kämper J, Kahmann R. Physical-chemical plant-derived signals induce differentiation in *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology*, 2009, 71(4): 895–911.
- [10] Klose J, De Sá MM, Kronstad JW. Lipid-induced filamentous growth in *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology*, 2004, 52(3): 823–835.
- [11] Spellig T, Bölker M, Lottspeich F, Frank RW, Kahmann R. Pheromones trigger filamentous growth in *Ustilago maydis*. *The EMBO Journal*, 1994, 13(7): 1620–1627.
- [12] Szabó Z, Tönnis M, Kessler H, Feldbrügge M. Structure-function analysis of lipopeptide pheromones from the plant pathogen *Ustilago maydis*. *Molecular Genetics and Genomics*, 2002, 268(3): 362–370.
- [13] Müller P, Aichinger C, Feldbrügge M, Kahmann R. The MAP kinase kpp2 regulates mating and pathogenic development in *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology*, 1999, 34(5): 1007–1017.
- [14] Heimel K, Freitag J, Hampel M, Ast J, Bölker M, Kämper J. Crosstalk between the unfolded protein response and pathways that regulate pathogenic development in *Ustilago maydis*. *The Plant Cell*, 2013, 25(10): 4262–4277.
- [15] Lanver D, Mendoza-Mendoza A, Brachmann A, Kahmann R. Sho1 and Msb2-related proteins regulate appressorium development in the smut fungus *Ustilago maydis*. *The Plant Cell*, 2010, 22(6): 2085–2101.
- [16] Lanver D, Berndt P, Tollot M, Naik V, Vranes M, Warmann T, Münch K, Rössel N, Kahmann R. Plant surface cues prime *Ustilago maydis* for biotrophic development. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(7): e1004272.
- [17] Fernández-Álvarez A, Elías-Villalobos A, Ibeas JI. The O-mannosyltransferase PMT4 is essential for normal appressorium formation and penetration in *Ustilago maydis*. *The Plant Cell*, 2009, 21(10): 3397–3412.
- [18] Haskins RH. Biochemistry of the Ustilaginales. I. preliminary cultural studies of *Ustilago zea*. *Canadian Journal of Research*, 1950, 28(2): 213–223.
- [19] Lemieux RU, Thorn JA, Brice C, Haskins RH. Biochemistry of the ustilaginales. II. Isolation and partial characterization of ustilagic acid. *Canadian Journal of Chemistry*, 1951, 29(5): 409–414.
- [20] Teichmann B, Linne U, Hewald S, Marahiel MA, Bölker M. A biosynthetic gene cluster for a secreted cellobiose lipid with antifungal activity from *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology*, 2007, 66(2): 525–533.
- [21] Kuiper I, Lagendijk EL, Pickford R, Derrick JP, Lamers GEM, Thomas-Oates JE, Lugtenberg BJJ, Bloemberg GV. Characterization of two *Pseudomonas putida* lipopeptide biosurfactants, putisolvin I and II, which inhibit biofilm formation and break down existing biofilms. *Molecular Microbiology*, 2004, 51(1): 97–113.
- [22] Hewald S, Linne U, Scherer M, Marahiel MA, Kämper J, Bölker M. Identification of a gene cluster for biosynthesis of mannosylerythritol lipids in the Basidiomycetous fungus *Ustilago maydis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(8): 5469–5477.
- [23] Hewald S, Josephs K, Bölker M. Genetic analysis of biosurfactant production in *Ustilago maydis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(6): 3033–3040.
- [24] Yarrow D. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts//Kurtzman CP, Fell JWE. The Yeasts, A Taxonomic Study. 4th ed. *Amsterdam: Elsevier*, 1998: 790–797.
- [25] Morita T, Ito E, Kitamoto HK, Takegawa K, Fukuoka T, Imura T, Kitamoto D. Identification of the gene PaEMT1 for biosynthesis of mannosylerythritol lipids in the basidiomycetous yeast *Pseudozyma antarctica*. *Yeast*, 2010, 27(11): 905–917.
- [26] Feldbrügge M, Kellner R, Schipper K. The biotechnological

- use and potential of plant pathogenic smut fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(8): 3253–3265.
- [27] Brachmann A, Schirawski J, Müller P, Kahmann R. An unusual MAP kinase is required for efficient penetration of the plant surface by *Ustilago maydis*. *The EMBO Journal*, 2003, 22(9): 2199–2210.
- [28] Doehlemann G, van der Linde K, Aßmann D, Schwambach D, Hof A, Mohanty A, Jackson D, Kahmann R. Pep1, a secreted effector protein of *Ustilago maydis*, is required for successful invasion of plant cells. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(2): e1000290.
- [29] Ruiz-Roldán MC, Maier FJ, Schäfer W. PTK1, a mitogen-activated-protein kinase gene, is required for conidiation, appressorium formation, and pathogenicity of *Pyrenophora teres* on barley. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2001, 14(2): 116–125.
- [30] Jones JDG, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444(7117): 323–329.
- [31] De Coninck B, Timmermans P, Vos C, Cammue BPA, Kazan K. What lies beneath: belowground defense strategies in plants. *Trends in Plant Science*, 2015, 20(2): 91–101.
- [32] Hemetsberger C, Herrberger C, Zechmann B, Hillmer M, Doehlemann G. The *Ustilago maydis* effector Pep1 suppresses plant immunity by inhibition of host peroxidase activity. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(5): e1002684.
- [33] Molina L, Kahmann R. An *Ustilago maydis* gene involved in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxification is required for virulence. *The Plant Cell*, 2007, 19(7): 2293–2309.
- [34] Zahiri A, Heimel K, Wahl R, Rath M, Kämper J. The *Ustilago maydis* forkhead transcription factor Fox1 is involved in the regulation of genes required for the attenuation of plant defenses during pathogenic development. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, 23(9): 1118–1129.
- [35] Djamei A, Schipper K, Rabe F, Ghosh A, Vincon V, Kahnt J, Osorio S, Tohge T, Fernie AR, Feussner I, Feussner K, Meinicke P, Stierhof YD, Schwarz H, Macek B, Mann M, Kahmann R. Metabolic priming by a secreted fungal effector. *Nature*, 2011, 478(7369): 395–398.
- [36] Durrant WE, Dong X. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 2004, 42: 185–209.
- [37] Mueller AN, Ziemann S, Treitschke S, Aßmann D, Doehlemann G. Compatibility in the *Ustilago maydis*-maize interaction requires inhibition of host cysteine proteases by the fungal effector Pit2. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(2): e1003177.
- [38] Basse CW. Dissecting defense-related and developmental transcriptional responses of maize during *Ustilago maydis* infection and subsequent tumor formation. *Plant Physiology*, 2005, 138(3): 1774–1784.
- [39] Rabe F, Ajami-Rashidi Z, Doehlemann G, Kahmann R, Djamei A. Degradation of the plant defence hormone salicylic acid by the biotrophic fungus *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology*, 2013, 89(1): 179–188.
- [40] Doehlemann G, Wahl R, Horst RJ, Voll LM, Usadel B, Poree F, Stitt M, Pons-Kühnemann J, Sonnewald U, Kahmann R, Kämper J. Reprogramming a maize plant: transcriptional and metabolic changes induced by the fungal biotroph *Ustilago maydis*. *The Plant Journal*, 2008, 56(2): 181–195.
- [41] Wahl R, Wippel K, Goos S, Kämper J, Sauer N. A novel high-affinity sucrose transporter is required for virulence of the plant pathogen *Ustilago maydis*. *PLoS Biology*, 2010, 8(2): e1000303.
- [42] Schuler D, Wahl R, Wippel K, Vranes M, Münsterkötter M, Sauer N, Kämper J. Hxt1, a monosaccharide transporter and sensor required for virulence of the maize pathogen *Ustilago maydis*. *New Phytologist*, 2015, 206(3): 1086–1100.
- [43] Schirawski J, Böhnert HU, Steinberg G, Snetselaar K, Adamikowa L, Kahmann R. Endoplasmic reticulum glucosidase II is required for pathogenicity of *Ustilago maydis*. *The Plant Cell*, 2005, 17(12): 3532–3543.
- [44] Scherer M, Heimel K, Starke V, Kämper J. The Clp1 protein is required for clamp formation and pathogenic development of *Ustilago maydis*. *The Plant Cell*, 2006, 18(9): 2388–2401.
- [45] Heimel K, Scherer M, Schuler D, Kämper J. The *Ustilago maydis* Clp1 protein orchestrates pheromone and b-dependent signaling pathways to coordinate the cell cycle and pathogenic development. *The Plant Cell*, 2010, 22(8): 2908–2922.
- [46] Bortfeld M, Auffarth K, Kahmann R, Basse CW. The *Ustilago maydis* a2 mating-type locus genes Iga2 and rga2 compromise pathogenicity in the absence of the mitochondrial p32 family protein Mrb1. *The Plant Cell*, 2004, 16(8): 2233–2248.
- [47] Brefort T, Tanaka S, Neidig N, Doehlemann G, Vincon V, Kahmann R. Characterization of the largest effector gene cluster of *Ustilago maydis*. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(7): e1003866.
- [48] Tanaka S, Brefort T, Neidig N, Djamei A, Kahnt J, Vermerris W, Koenig S, Feussner K, Feussner I, Kahmann R. A secreted

- Ustilago maydis* effector promotes virulence by targeting anthocyanin biosynthesis in maize. *Elife*, 2014, 3: e01355.
- [49] Basse CW, Stumpferl S, Kahmann R. Characterization of a *Ustilago maydis* gene specifically induced during the biotrophic phase: evidence for negative as well as positive regulation. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, 20(1): 329–339.
- [50] Basse CW, Steinberg G. *Ustilago maydis*, model system for analysis of the molecular basis of fungal pathogenicity. *Molecular Plant Pathology*, 2004, 5(2): 83–92.
- [51] Pataky JK, Snetselaar KM. Common smut of corn (Syn. boil smut, blister smut). *The Plant Health Instructor*, 2006, doi: 10.1094/PHI-I-2006-0927-01.
- [52] Valdez-Morales M, Barry K, Fahey Jr GC, Dominguez J, de Mejia EG, Valverde ME, Paredes-López O. Effect of maize genotype, developmental stage, and cooking process on the nutraceutical potential of huitlacoche (*Ustilago maydis*). *Food Chemistry*, 2010, 119(2): 689–697.
- [53] Gao L, Kelliher T, Nguyen L, Walbot V. *Ustilago maydis* reprograms cell proliferation in maize anthers. *The Plant Journal*, 2013, 75(6): 903–914.
- [54] Krüger J, Loubradou G, Wanner G, Regenfelder E, Feldbrügge M, Kahmann R. Activation of the cAMP pathway in *Ustilago maydis* reduces fungal proliferation and teliospore formation in plant tumors. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2000, 13(10): 1034–1040.
- [55] Gold SE, Brogdon SM, Mayorga ME, Kronstad JW. The *Ustilago maydis* regulatory subunit of a cAMP-dependent protein kinase is required for gall formation in maize. *The Plant Cell*, 1997, 9(9): 1585–1594.
- [56] Brefort T, Doehlemann G, Mendoza-Mendoza A, Reissmann S, Djamei A, Kahmann R. *Ustilago maydis* as a pathogen. *Annual Review of Phytopathology*, 2009, 47: 423–445.
- [57] Dürrenberger F, Kronstad J. The *ukc1* gene encodes a protein kinase involved in morphogenesis, pathogenicity and pigment formation in *Ustilago maydis*. *Molecular and General Genetics*, 1999, 261(2): 281–289.
- [58] Doehlemann G, Reissmann S, Abmann D, Fleckenstein M, Kahmann R. Two linked genes encoding a secreted effector and a membrane protein are essential for *Ustilago maydis*-induced tumour formation. *Molecular Microbiology*, 2011, 81(3): 751–766.
- [59] Banuett F. Identification of genes governing filamentous growth and tumor induction by the plant pathogen *Ustilago maydis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1991, 88(9): 3922–3926.
- [60] Skibbe DS, Doehlemann G, Fernandes J, Walbot V. Maize tumors caused by *Ustilago maydis* require organ-specific genes in host and pathogen. *Science*, 2010, 328(5974): 89–92.
- [61] Redkar A, Hoser R, Schilling L, Zechmann B, Krzymowska M, Walbot V, Doehlemann G. A secreted effector protein of *Ustilago maydis* guides maize leaf cells to form tumors. *The Plant Cell*, 2015, 27(4): 1332–1351.
- [62] Allen A, Islamovic E, Kaur J, Gold S, Shah D, Smith TJ. Transgenic maize plants expressing the *Totivirus antifungal* protein, KP4, are highly resistant to corn smut. *Plant Biotechnology Journal*, 2011, 9(8): 857–864.
- [63] Schilling L, Matei A, Redkar A, Walbot V, Doehlemann G. Virulence of the maize smut *Ustilago maydis* is shaped by organ-specific effectors. *Molecular Plant Pathology*, 2014, 15(8): 780–789.
- [64] Regenfelder E, Spellig T, Hartmann A, Lauenstein S, Böcker M, Kahmann R. G proteins in *Ustilago maydis*: transmission of multiple signals? *The EMBO Journal*, 1997, 16(8): 1934–1942.
- [65] Dürrenberger F, Laidlaw RD, Kronstad JW. The *hgl1* gene is required for dimorphism and teliospore formation in the fungal pathogen *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology*, 2001, 41(2): 337–348.
- [66] Huber S, Lottspeich F, Kämper J. A gene that encodes a product with similarity to dioxygenases is highly expressed in teliospores of *Ustilago maydis*. *Molecular Genetics and Genomics*, 2002, 267(6): 757–771.
- [67] Karakkat BB, Gold SE, Covert SF. Two members of the *Ustilago maydis* velvet family influence teliospore development and virulence on maize seedlings. *Fungal Genetics and Biology*, 2013, 61: 111–119.
- [68] Torreblanca J, Stumpferl S, Basse CW. Histone deacetylase Hda1 acts as repressor of the *Ustilago maydis* biotrophic marker gene *mig1*. *Fungal Genetics and Biology*, 2003, 38(1): 22–32.
- [69] Reichmann M, Jamnischek A, Weinzierl G, Ladendorf O, Huber S, Kahmann R, Kämper J. The histone deacetylase Hda1 from *Ustilago maydis* is essential for teliospore development. *Molecular Microbiology*, 2002, 46(4): 1169–1182.
- [70] García-Pedrajas MD, Baeza-Montañez L, Gold SE. Regulation of *Ustilago maydis* dimorphism, sporulation, and pathogenic development by a transcription factor with a highly conserved

- APSES domain. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, 23(2): 211–222.
- [71] Islamovic E, García-Pedrajas MD, Chacko N, Andrews DL, Covert SF, Gold SE. Transcriptome analysis of a *Ustilago maydis* *ust1* deletion mutant uncovers involvement of laccase and polyketide synthase genes in spore development. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2015, 28(1): 42–54.
- [72] Castruita-Domínguez JP, González-Hernández SE, Polaina J, Flores-Villavicencio LL, Alvarez-Vargas A, Flores-Martínez A, Ponce-Noyola P, Leal-Morales CA. Analysis of a polygalacturonase gene of *Ustilago maydis* and characterization of the encoded enzyme. *Journal of Basic Microbiology*, 2014, 54(5): 340–349.
- [73] Xie J, Du H, Guan GB, Tong YJ, Kourkoumpetis TK, Zhang LX, Bai FY, Huang GH. N-acetylglucosamine induces white-to-opaque switching and mating in *Candida tropicalis*, providing new insights into adaptation and fungal sexual evolution. *Eukaryotic Cell*, 2012, 11(6): 773–782.

## Parasitic strategy and regulation mechanism of *Ustilago maydis* - A review

Zhimin Li, Li Yan, Zhun Yan\*

Institute of Bast Fiber Crops and Center of Southern Economic Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410205, Hunan Province, China

**Abstract:** Corn smut is a disease caused by *Basidiomycetous* fungus *Ustilago maydis*. This pathogen is a dimorphic fungus that needs to complete its sexual reproduction in living corn. We reviewed recent research reports of this disease, we divided the parasitization course of *U. maydis* into 7 stages in this paper, including the formation of pathogenic dikaryotic hyphae, attaching to the surface of host plant, penetrating the host epidermis, weakening host defense response, proliferating mycelium in host plant, inducing tumor in host tissue and the formation of chlamydospore. We also reviewed key genes involved in each stage and elaborate their function during pathogenesis. We present the sophisticated parasitic strategy of *U. maydis* in the process to achieve its sexual reproduction. The division of *U. maydis* parasitization course in this review will help understanding the interaction mechanisms between the pathogen and host plant, and provide new ideas for the prevention and control of such diseases.

**Keywords:** *Ustilago maydis*, corn smut, parasitization, pathogenesis, regulation mechanism

(本文责编: 李磊)

Supported by the Agricultural Science and Technology Innovation Project of CAAS (CAAS-ASTIP-2015-IBFC09), and by the Ministry of agriculture “monitoring and control project for the crops disease, pests and rodent epidemic” (S158).

\*Corresponding author. Tel: +86-731-88998529; E-mail: yanzhuntoronto@gmail.com

Received: 22 November 2015; Revised: 26 January 2016; Published online: 10 March 2016