

苏月贵,唐照磊,杜青,等. 玉米穗腐病致病南方镰孢菌菌株 JX18-4 效应蛋白的预测及分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(23):124-128.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.23.017

玉米穗腐病致病南方镰孢菌菌株 JX18-4 效应蛋白的预测及分析

苏月贵¹,唐照磊¹,杜青¹,陈培鑫²,李石初¹

(1. 广西壮族自治区农业科学院玉米研究所,广西南宁 530007; 2. 广西农业职业技术大学,广西南宁 530007)

摘要:为挖掘与玉米受体蛋白互作进而触发免疫反应的南方镰孢菌效应蛋白,基于南方镰孢菌菌株 JX18-4 全基因组编码蛋白序列,利用 Signal P、WoLFp SORT、Target P、TMHMM 和 big PI Predictor 等生物信息学软件预测出分泌蛋白 684 个,随后再用 EffectorP 软件预测出效应蛋白 157 个,随后筛选出氨基酸残基数 < 400 且半胱氨酸残基数 ≥ 4 的效应蛋白 115 个。植物与寄主互作 (PHI) 和碳水化合物酶类 (CAZymes) 分析结果表明,获得 PHI 和 CAZymes 数据库注释的效应蛋白数分别为 14、26 个。10 个效应蛋白获得 PHI 和 CAZymes 2 个数据库注释,其中 6 个候选效应蛋白的注释结果一致。本研究所预测出的南方镰孢菌菌株 JX18-4 效应蛋白将会为南方镰孢菌引起的玉米穗腐病的致病机制及防控方法研究提供了参考依据。

关键词:南方镰孢菌;玉米穗腐病;全基因组;分泌蛋白;效应蛋白

中图分类号:S435.131.4⁺9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)23-0124-05

穗腐病是玉米生产上的重要病害之一,在世界范围内普遍发生,也是我国最常见的玉米真菌病害。镰孢菌主要引起的 2 种类型的玉米穗腐病,分别为镰孢穗腐病 (*Fusarium ear rot*, 简称 FER) 和赤霉穗腐病 (*Gibberella ear rot*, 简称 GER)^[1],南方镰孢 (*Fusarium meridionale*) 与禾谷镰孢 (*F. graminearum*) 同为禾谷镰孢复合种的不同发育种,均能引起 GER。在国外,由南方镰孢引起的玉米穗腐病主要发生在气候湿润的巴西南部、阿根廷东北部和我国西南近邻尼泊尔等地^[2-4];在我国,主要分布在西南玉米产区,如广西、贵州、云南、四川、陕西、重庆等地,也是引起广西玉米穗腐病的重要致病菌^[5-7]。南方镰孢穗腐病导致玉米产量损失和品质下降,更重要的是收获感染了该病菌的果穗,可能会导致真菌毒素如雪腐镰刀菌烯醇 (nivalenol, 简称 NIV) 和赤霉烯酮 (zearalenone, 简称 ZEA) 的污

染,给人畜的生命健康构成严重威胁。

南方镰孢喜好冷凉和湿度较高的环境,在 22 ~ 28 °C,开花期或收获期遇到降雨、雾水等潮湿的环境有利于该病害的发生^[7-8]。Machado 等认为,巴西南方镰孢菌株的侵染力和竞争性要强于禾谷镰孢,导致南方镰孢相比禾谷镰孢处于优势地位^[2]。桂北是广西的玉米主产区,具有冷凉、多山、多雾、多雨、寡照等气候特点,适宜南方镰孢生长繁殖,而玉米是该地区最主要的口粮作物之一,因此尤其需要重视该病害在该区域的防控,而选育抗性品种成为防控玉米穗腐病最经济和安全有效的方法^[9]。

植物对病原菌的侵染存在 2 种类型的免疫机制,被称为 PTI (PAMP - triggered immunity) 途径和 ETI (effector - triggered immunity) 途径^[10],当病原菌侵染作物时,病原相关分子模式 (pathogen - associated molecular patterns, PAMP) 分子机制识别病原菌,启动 PTI 免疫反应,该防卫反应是系统性、广谱性的,其烈度相对较弱,因此很多病原菌能够突破植物的 PTI 免疫反应而进一步增殖。病原菌为了克服植物的本底防御反应,在侵染植物时会分泌效应蛋白 (effector) 来抑制植物免疫反应使植物感病 (effector - triggered susceptibility, ETS)。植物为了克服 ETS 反应,进化出了第 2 种防御机制 ETI,即病原菌效应蛋白诱导的免疫反应。ETI 反应往往伴随

收稿日期:2024-02-02

基金项目:广西自然科学基金(编号:2020GXNSFAA297137);广西农业科学院科技发展基金(编号:桂农科 2021JM39、桂农科 2022JM17)。

作者简介:苏月贵(1984—),男,广西灵川人,硕士,助理研究员,从事玉米抗病性研究。E-mail:suyuegui@163.com。

通信作者:杜青,硕士,副研究员,从事玉米抗病性研究。E-mail:duq82@163.com。

着植物超敏反应的发生,是更剧烈的防卫反应,能够在病原菌侵染点附近引起过敏性坏死反应,导致植物细胞程序性死亡,从而将病原菌限制在侵染点,具有持久性、高效性。稻瘟菌的无毒基因与植物的抗病基因相互作用符合经典的“基因对基因”理论,病原菌侵入植物体内释放效应蛋白,植物的抗性蛋白能够特异性识别病原菌分泌的效应蛋白,从而激活下游的免疫反应^[10]。

真菌效应子大多具有以下特征:(1)氨基酸序列 N 端具有一段信号肽,定位在胞外;(2)无 GPI 锚定位点;(3)一般在侵染宿主前期阶段活跃表达;(4)蛋白长度为 50~400 个氨基酸,并且含有大量的半胱氨酸残基(Cys),这些参数常被用来预测真菌效应蛋白^[11-12]。研究者已经开发出 Signal P、WoLFPSORT、Target P、TMHMM、big PI Predictor 等可以预测分泌蛋白的软件,在此基础上再用 EffectorP 软件预测效应子。

本研究前期从一个采自广西靖西市的玉米病穗上单孢分离得到 1 株南方镰孢菌菌株 JX18-4,经形态学鉴定后,采用 FUSARIUM-ID v. 3.0 对引物延伸因子 *TEF-1 α* 基因(NCBI 登录号:OR513044)进行序列比对分析,明确其为南方镰孢菌。随后对该菌株进行三代 Pacbio 和二代 Illumina 全基因组测序。本研究利用生物信息学软件进行分泌蛋白和效应蛋白的序列特征预测,并利用数据库对预测到的效应蛋白进行注释。以期后续南方镰孢菌引起的玉米穗腐病的致病机制及防控机制研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 基因组信息

南方镰孢菌菌株 JX18-4 分离自 2019 年秋季广西靖西市玉米田玉米穗腐病发病果穗,全基因组蛋白信息来源于 NCBI(登录号:PRJNA977470),下载地址为(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_032355295.1/),该南方镰孢菌基因组共包含 11 920 个蛋白。

1.2 分泌蛋白预测

参考文献[11-12]中的方法,使用多种软件对基因进行预测分析。(1)使用 SignalIP 5.0 在线软件(<http://www.Cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)预测分泌信号肽,保留有信号肽的基因。(2)使用 SecretomeP 软件([https://services.healthtech.dtu.](https://services.healthtech.dtu.dk/services/SecretomeP-2.0/)

[dk/services/SecretomeP-2.0/](https://services/SecretomeP-2.0/))对缺乏信号肽的蛋白预测非经典分泌蛋白(NN-score >0.5)。(3)使用 TargetP 软件 TargetP v2.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP-2.0/>)对 SignalP 和 SecretomeP 预测结果所保留的基因进行 TargetP 分析,去除其中的线粒体蛋白。(4)利用 TMHMM 2.0 sever(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)对具有 N-端信号肽且定位于胞外的蛋白质进行跨膜结构域分析,仅保留跨膜结构域数目 ≤ 1 的蛋白质。(5)使用 WoLFPSORT 软件(<https://wolfsort.hgc.jp/>)进行蛋白的亚细胞定位分析,选择得分大于 17 的细胞外目的蛋白。(6)使用 big-PI predictor(https://mendel.imp.ac.at/gpi/gpi_server.html)分析锚定位点,无 GPI 锚定位点的蛋白为候选分泌蛋白。

1.3 效应蛋白的预测

对预测出的分泌蛋白进一步进行效应子预测,利用 EffectorP 软件(<https://effectorp.csiro.au/>)预测分泌蛋白中的真菌的候选效应蛋白。随后筛选出氨基酸残基数 <400 且半胱氨酸残基数 ≥ 4 的效应蛋白^[13]。

1.4 PHI 及 CAZymes 基因注释

基于 PHI(Pathogen-Host Interaction database, <http://www.phi-base.org/downloadLink.Htm>)数据库,对预测到的效应子进行植物病原互作相关基因注释,同时,利用 CAZymes(Carbohydrate-Active enzymes, CAZymes, <http://www.cazy.org/>)对分泌蛋白、候选效应蛋白与碳水化合物酶类序列进行 BlastP 同源性比对。优先关注 E-value 最低、比对得分(score)最高的注释,同时关注注释基因的功能描述。

2 结果与分析

2.1 南方镰孢菌分泌蛋白预测

对利用 SignalIP 5.0 南方镰孢菌菌株 JX18-4 预测出的 11 920 个蛋白质进行信号肽预测,具有 N 端信号肽的蛋白序列有 1 248 个,这些蛋白属于典型的内质网/高尔基体途径进行运输,并最终分泌到细胞外 SP(Sec/SPI)型经典分泌蛋白。为不遗漏不具备信号肽特征却能分泌到细胞外发挥功能的非经典分泌蛋白,SecretomeP 软件分析结果显示,NN-score 分值高于 0.5 的蛋白序列为 5 602 个。SignalIP 和 SecretomeP 软件分析所得的共 6 850 个

蛋白序列采用 TargetP v2.0 软件预测蛋白的亚细胞定位,去除定位在线粒体上的蛋白后,共获得 5 868 个蛋白序列。采用 TMHMM v2.0 软件对上述蛋白序列进行跨膜结构域分析,751 个蛋白序列具有 2 个以上跨膜区,即分泌到其他细胞器的蛋白,仅保留跨膜结构域数 ≤1 的蛋白序列 5 117 个。利用 WoLF PSORT 对含有上述蛋白序列进行亚细胞定位分析,794 个蛋白得分大于 17,是分泌到细胞外的目的蛋白。最后用 big - PI predictor 软件排除含有锚定位点的蛋白序列,最终获得 684 个分泌蛋白(图 1)。684 个分泌蛋白中,635 个蛋白是具有信号肽序列特征,占比 92.84%,另外 49 个是不具备信号肽特征序列的非经典分泌蛋白,占比 7.16%。

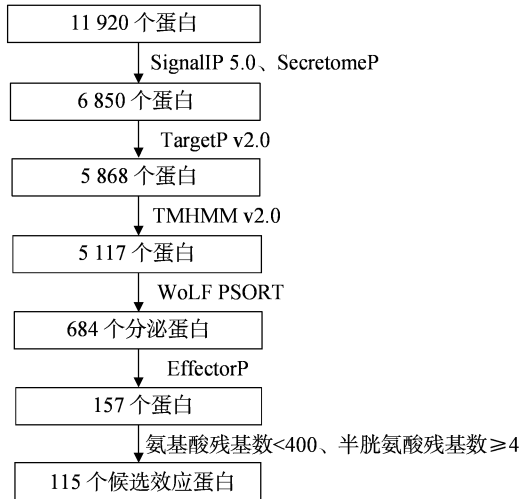


图1 南方镰孢菌菌株 JX18-4 效应蛋白预测

2.2 效应蛋白的筛选

利用 EffectorP 软件预测分泌蛋白中的真菌效应蛋白,不是效应子的蛋白序列 405 个,剔除掉筛选出不大可能是效应子的蛋白序列 22 个[可能性(probability)值 < 0.55],预测出效应子 157 个(probability 值 ≥ 0.55),这些效应蛋白的可能性 probability 为 0.553 ~ 0.984 不等。大多数已知效应蛋白氨基酸残基较少且富含半胱氨酸,且缺乏保守的氨基酸序列特征,真菌效应蛋白的预测一般采用相对宽泛的标准^[13]。不同研究往往采用的参数指标并不一致,本研究以蛋白序列长度小于 400 个氨基酸且半胱氨酸残基数 ≥ 4 的标准进一步筛选效应蛋白^[11,13],最终获得 115 个符合要求的效应蛋白(图 1)。

2.3 PHI 和 CAZymes 注释分析

从“2.2”节中得到的 115 个效应蛋白序列,仅 14 个获得 PHI 数据库注释(表 1)。其中注释为无毒效应子的 3 个,均与稻瘟病菌诱导过敏性反应相

表 1 JX18-4 菌株获得 PHI 注释的效应蛋白

基因	可能性值	氨基酸残基数	Cys 残基数	E - value	PHI - base 序号	基因缺失突变体的致病力	功能	注释基因名称	病原菌种	CAZymes 亚家族
JX18 - 4_000824	0.655	210	6	6.48×10^{-10}	PHI:69	致病力没有影响	角质酶	CUTA	<i>Botrytis cinerea</i>	CE5
JX18 - 4_001890	0.722	98	8	1.96×10^{-41}	PHI:458	毒力减弱	疏水蛋白	MHP1	<i>Magnaporthe oryzae</i>	no
JX18 - 4_002683	0.600	247	7	1.67×10^{-18}	PHI:3216	无毒基因	诱导细胞死亡	MoCDIP4	<i>Magnaporthe oryzae</i>	AA9
JX18 - 4_003263	0.824	208	6	1.35×10^{-57}	PHI:2118	无毒基因	过敏反应	MgSM1	<i>Magnaporthe oryzae</i>	no
JX18 - 4_003752	0.569	394	5	5.14×10^{-83}	PHI:257	毒力减弱	附着胞穿透	GAS2	<i>Magnaporthe oryzae</i>	no
JX18 - 4_004928	0.867	249	12	2.35×10^{-153}	PHI:179	毒力减弱	果胶裂解酶	PELA	<i>Fusarium solani</i>	CBM1
JX18 - 4_005073	0.553	375	8	1.37×10^{-94}	PHI:3226	毒力减弱	果胶裂解酶	pnl1	<i>Penicillium digitatum</i>	CBM1
JX18 - 4_005256	0.666	228	6	1.42×10^{-89}	PHI:747	致病力没有影响	假定蛋白	um00445	<i>Ustilago maydis</i>	CE5
JX18 - 4_005366	0.597	326	4	6.93×10^{-96}	PHI:1028	毒力减弱	果胶甲基酯酶	bqpm1	<i>Botrytis cinerea</i>	CE8
JX18 - 4_005485	0.827	367	6	1.79×10^{-161}	PHI:3213	无毒基因	诱导细胞死亡	MoCDIP1	<i>Magnaporthe oryzae</i>	CBM13
JX18 - 4_005655	0.767	261	5	0	PHI:1575	致病力没有影响	糖苷水解酶	GzOB015	<i>Fusarium graminearum</i>	AA9
JX18 - 4_007996	0.614	349	8	0	PHI:432	毒力减弱	脂肪酶	FGL1	<i>Fusarium graminearum</i>	no
JX18 - 4_008860	0.801	279	7	0	PHI:2452	致病力没有影响	阿魏酰酯酶	FAEDI	<i>Fusarium graminearum</i>	CE1
JX18 - 4_010703	0.581	336	5	1.23×10^{-45}	PHI:2476	毒力减弱	果胶裂解酶	CqpeA	<i>Colletotrichum coccodes</i>	CBM1

关;注释为基因敲除突变体后毒力减弱的基因 7 个;注释为基因敲除后突变体无致病力变化的 4 个。

684 个分泌蛋白,获得 CAZymes 注释的基因为 202 个。碳水化合物结合模块(carbohydrate-binding module, CBM)家族基因最多,为 84 个,糖苷水解酯酶(glycoside hydrolases, GH)家族基因次之,为 78 个,辅助氧化还原酶类(auxiliary activities, AA)家族基因 23 个,碳水化合物酯酶(carbohydrate esterases, CE)家族基因 16 个,多糖裂解酶(polysaccharide lyases, PL)家族基因仅 1 个(表 2)。115 个候选效应蛋白中,CBM 家族基因最多,为 11 个,CE 家族基因次之,为 10 个,GH 家族基因为 3 个,AA 家族基因为 2 个,PL 家族基因未获得注释(表 2)。

表 2 JX18-4 菌株分泌蛋白和效应蛋白的 CAZymes 家族蛋白数

类型	数量(个)					总计
	CBM	GH	AA	CE	PL	
分泌蛋白	84	78	23	16	1	202
候选效应蛋白	11	3	2	10	0	26

10 个效应蛋白获得 PHI 和 CAZymes 2 个数据库注释,6 个基因的注释基因功能一致,例如 JX18-4_002683 的基因功能为糖苷水解酶, JX18-4_004928、JX18-4_005073、JX18-4_010703 注释为果胶裂解酶, JX18-4_005366 注释为果胶酯酶, JX18-4_008860 注释为阿魏酸酯酶。

3 讨论

本研究基于南方镰孢菌株 JX18-4 的全基因组测序后的序列分析,共预测到 115 个效应蛋白,其中获得 PHI 数据注释的效应蛋白为 14 个,获得 CAZymes 注释的基因为 26 个,这可能是由于大量真菌效应子还未被发掘和报道,植物病原真菌效应蛋白与寄主植物的互作机制研究报道还极不充分。14 个 PHI 数据库注释的效应蛋白中,10 个被 CAZymes 数据库注释,其中 6 个基因的注释功能一致,说明本注释结果具有较好的一致性。这些已报道、注释到的基因在其他物种上影响着病害的发生程度,其是否影响玉米穗腐病的致病情况有待进一步进行研究。利用高通量测序技术预测分泌蛋白和效应蛋白,能极大程度地为后续研究进行前期筛选。随着病原真菌和植物寄主间的互作机理研究逐渐深入,大量病原菌效应蛋白将会不断被鉴定和报道,合理利用预测出的 115 个南方镰孢效应蛋白序列,与已报道、影响致病力的效应蛋白序列进行序列比对,

将有利于阐明南方镰孢菌与玉米的互作机制。随着测序技术的发展,真菌全基因组测序价格快速降低,基于全基因组测序后的真菌效应蛋白预测,能大大加快真菌效应蛋白的挖掘进程。

JX18-4_002683、JX18-4_003263 和 JX18-4_005485 共 3 个基因注释为无毒效应蛋白,诱导过敏性坏死反应。JX18-4_002683 注释到的基因 *MoCDIP4* 作用是诱导细胞死亡,包含 1 个糖基水解酶家族结构域和 1 个真菌纤维素结合结构域,C 末端的纤维素结合结构域在诱导细胞死亡中具有重要的功能^[14]。JX18-4_003263 注释到的稻瘟病菌基因 *MgSMI*,无论是在真菌生长还是在水稻的初侵染过程中都能组成型表达,在拟南芥中通过上调防卫基因的表达引起叶片的过敏性反应^[15]。JX18-4_005655 注释到的 *MoCDIP1* 基因的 N 端 PbH1 motif 基序功能为诱导植物细胞过敏性坏死^[14]。这 3 个基因作为稻瘟病菌的无毒基因,侵入寄主细胞后,可能与植物细胞中的 R 基因发生互作,可诱导寄主产生过敏性坏死反应,从而导致寄主抗病。然而,南方镰孢菌作为玉米穗腐病、玉米茎腐病、小麦赤霉病、水稻赤霉病和大豆荚枯病^[5-7,16]的致病菌,是否会在玉米叶片、茎秆、籽粒组织中引起 ETI 免疫应答反应还尚待后续验证。广西玉米育种家当前极缺乏玉米赤霉穗腐病优异抗源,笔者所在项目组前期已经鉴定出 CML287、CML362 等极少量抗南方镰孢菌穗腐病的玉米自交系,但其抗病机制尚不明确,从抗病自交系中发掘出与无毒效应子互作的抗病基因,合理利用其剧烈的 ETI 防卫反应机制,对于玉米抗穗腐病育种具有重要价值。

玉米籽粒中富含淀粉,主要存在于玉米胚乳中,纤维素主要存在于玉米的种皮和内皮中,果胶作为一种半乳糖醛酸的聚合多糖,存在于玉米的种皮或细胞壁中。注释到的部分效应蛋白为潜在的淀粉、纤维素、果胶等物质降解酶。植物病原真菌分泌到胞外的碳水化合物酶是一类重要的活性蛋白,依据这些酶的氨基酸序列的保守结构域,将这些活性酶归入不同的蛋白质家族,其功能结构域可能通过作用于寄主的糖复合物、寡糖和多糖等方式,从而降解玉米籽粒中的多种物质。26 个获得 CAZymes 注释的效应蛋白中,碳水化合物结合模块(CBM)家族 11 个,碳水化合物酯酶(CE)家族 11 个。JX18-4_004928、JX18-4_005073 和 JX18-4_010703 等 3 个基因的 PHI 和 CAZymes 数据库注释

均为果胶裂解酶,CAZymes 数据库注释均为 CBM1 亚家族,CBM1 亚家族被称为纤维素结合模块蛋白,例如,里氏木霉的 Cel7A 酶中含有该蛋白,EC 分类号为 3.2.1.176,其底物为纤维素^[17]。

南方镰孢与禾谷镰孢为禾谷镰孢复合种的不同发育种^[5],禾谷镰孢菌模式菌株 PH-1 与本研究中南方镰孢菌菌株 JX18-4 具有极高的共线性关系(另文发表),利用已报道禾谷镰孢菌致病相关基因与南方镰孢菌菌株 JX18-4 进行序列比对,基因预测会更为准确。PHI 数据库注释结果显示,3 个效应蛋白的 E-value 值为 0,JX18-4_005655、JX18-4_007996 和 JX18-4_008860 对应的物种均为禾谷镰孢菌,说明这 3 个效应蛋白与注释基因高度同源。只有 JX18-4_007996 注释基因 *FGLI* 明确为侵染小麦赤霉病和玉米穗腐病的毒力因子,具有细胞外脂肪酶分解活性^[18]。然而,禾谷镰孢效应蛋白与玉米靶标蛋白互作调控玉米穗腐病抗性机制的报道尚不充分,亦未见南方镰孢菌效应蛋白相关的报道。本研究预测出的 115 个南方镰孢菌效应蛋白,可能对禾谷镰孢菌引起的病害亦具有一定参考价值。

前人的研究已成功定位了大量玉米抗禾谷镰孢菌引起的赤霉穗腐病 QTL^[19],却未见明确抗赤霉穗腐病基因的相关报道。这可能是由于玉米的基因组较大,采用常规 QTL 定位方法,抗病 QTL 定位区间往往过大且表型解释率较低,难以聚焦到寄主中与效应蛋白互作的、免疫反应相关的蛋白质。为了阐明玉米抗病基因与镰孢菌的互作机制,鉴定并明确南方镰孢效应蛋白,通过酵母双杂交技术,利用效应蛋白作为诱饵,筛选与效应蛋白互作的玉米靶标蛋白,缩小候选抗病基因的筛选范围。本研究结果可为南方镰孢效应蛋白与玉米靶标蛋白互作机制、抗玉米穗腐病基因的挖掘及分子育种奠定基础。

参考文献:

[1] Munkvold G P. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2003,109(7):705-713.
 [2] Machado F J, Kuhnem P R, Casa R T, et al. The dominance of *Fusarium meridionale* over *F. graminearum* causing *Gibberella* ear rot in Brazil may be due to increased aggressiveness and competitiveness [J]. *Phytopathology*, 2021,111(10):1774-1781.
 [3] Sampietro D A, Díaz C G, Gonzalez V, et al. Species diversity and toxigenic potential of *Fusarium graminearum* complex isolates from maize fields in northwest Argentina[J]. *International Journal of Food*

Microbiology, 2011,145(1):359-364.
 [4] Desjardins A E, Proctor R H. Genetic diversity and trichothecene chemotypes of the *Fusarium graminearum* clade isolated from maize in Nepal and identification of a putative new lineage[J]. *Fungal Biology*, 2011,115(1):38-48.
 [5] 杜青,唐照磊,李石初,等. 广西玉米穗腐病致病镰孢种群构成与毒素化学型分析[J]. *中国农业科学*, 2019,52(11):1895-1907.
 [6] Duan C X, Qin Z H, Yang Z H, et al. Identification of pathogenic *Fusarium* spp. causing maize ear rot and potential mycotoxin production in China[J]. *Toxins*, 2016,8(6):186.
 [7] Zhou D N, Wang X M, Chen G K, et al. The major *Fusarium* species causing maize ear and kernel rot and their toxigenicity in Chongqing, China[J]. *Toxins*, 2018,10(2):90.
 [8] Dalla Lana F, Madden L V, Paul P A. Natural occurrence of maize *Gibberella* ear rot and contamination of grain with mycotoxins in association with weather variables[J]. *Plant Disease*, 2021,105(1):114-126.
 [9] 尹泽超,王晓芳,龙艳,等. 玉米穗腐病抗性鉴定、遗传分析与分子机制[J]. *中国生物工程杂志*, 2021,41(12):103-115.
 [10] 巫浩翔,陆展华,方志强,等. 稻瘟病菌效应蛋白与水稻互作研究现状及展望[J]. *广东农业科学*, 2023,50(12):52-61.
 [11] 何艳秋,颜瑞,蒙姑,等. 香蕉枯萎病菌 1 号小种分泌蛋白与效应子的预测与分析[J]. *植物病理学报*, 2020,50(2):129-140.
 [12] 李泉艺,董章勇,罗梅. 棘孢木霉分泌蛋白和效应子的预测及分析[J]. *仲恺农业工程学院学报*, 2022,35(1):13-17.
 [13] Jones D A, Bertazzoni S, Turo C J, et al. Bioinformatic prediction of plant-pathogenicity effector proteins of fungi[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2018,46:43-49.
 [14] Chen S B, Songkumam P, Venu R C, et al. Identification and characterization of in planta-expressed secreted effector proteins from *Magnaporthe oryzae* that induce cell death in rice [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013,26(2):191-202.
 [15] Yang Y Y, Zhang H J, Li G J, et al. Ectopic expression of MgSM1, a Cerato-platanin family protein from *Magnaporthe grisea*, confers broad-spectrum disease resistance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2009,7(8):763-777.
 [16] Liu X, Fang X, Yu F W, et al. Improved whole-genome sequence of *Fusarium meridionale*, the fungal pathogen causing *Fusarium* head blight in rice[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2022,35(1):85-89.
 [17] van Tilbeurgh H, Tomme P, Claeysens M, et al. Limited proteolysis of the cellobiohydrolase I from *Trichoderma reesei* [J]. *Federation of European Biochemical Societies Letter*, 1986,204(2):223-227.
 [18] Voigt C A, Schäfer W, Salomon S. A secreted lipase of *Fusarium graminearum* is a virulence factor required for infection of cereals [J]. *Plant Journal*, 2005,42(3):364-375.
 [19] Gaikpa D S, Miedaner T. Genomics-assisted breeding for ear rot resistances and reduced mycotoxin contamination in maize: methods, advances and prospects [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019,132(10):2721-2739.