微生物学通报
Microbiology China
tongbao@im.ac.cn
http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn

Jul. 20, 2025, 52(7): 3176-3186
CSTR: 32113.14.j.MC.241030
DOI: 10.13344/j.microbiol.china.241030

研究报告

暹罗炭疽菌 C2H2 型转录因子 CsCreA 参与调控营养生长、胁迫响应、孢子发育及致病性

许寅翼，韦涵文，林少园，唐雯，柳志强，李晓宇*

海南大学 生命健康学院，海南 海口 570228

许寅翼, 韦涵文, 林少园, 唐雯, 柳志强, 李晓宇. 暹罗炭疽菌 C2H2 型转录因子 CsCreA 参与调控营养生长、胁迫响应、孢子发育及致病性[J]. 微生物学通报, 2025, 52(7): 3176-3186.

XU Yinyi, WEI Hanwen, LIN Shaoyuan, TANG Wen, LIU Zhiqiang, LI Xiaoyu. A C2H2 transcription factor CsCreA regulates vegetative growth, stress responses, conidial development, and pathogenicity of *Colletotrichum siamense*[J]. Microbiology China, 2025, 52(7): 3176-3186.

摘　要：【背景】暹罗炭疽菌(*Colletotrichum siamense*)是侵染橡胶的主要病原菌之一，每年造成严重的经济损失。CreA 在调控真菌生长及发育过程中发挥着重要作用。【目的】从暹罗炭疽菌中鉴定 CreA 的同源蛋白 CsCreA，并分析其生物学功能。【方法】利用同源重组的方法构建暹罗炭疽菌敲除突变株 Δ*CscreA* 和互补菌株，通过测定其营养生长、胁迫因子响应、分生孢子产量及萌发、致病性等明确其功能。【结果】*CscreA* 编码 1 个含有 386 个氨基酸的蛋白和 2 个典型的 C2H2 蛋白结构域。相较于野生型菌株，敲除突变株 Δ*CscreA* 生长速度减慢，并且对 H_2O_2 和刚果红更加敏感，对 KCl 敏感性下降；Δ*CscreA* 分生孢子的产量和萌发率显著降低，致病性减弱。【结论】暹罗炭疽菌转录因子 CsCreA 参与调控菌株营养生长、胁迫响应、分生孢子的产生、萌发和致病过程。

关键词：橡胶炭疽病；暹罗炭疽菌；C2H2 型转录因子；生物学功能

资助项目：国家自然科学基金(32160371)
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32160371).
*Corresponding author. E-mail: lixiaoyu@hainanu.edu.cn
Received: 2024-11-21; Accepted: 2025-01-05; Published online: 2025-01-23

A C2H2 transcription factor CsCreA regulates vegetative growth, stress responses, conidial development, and pathogenicity of *Colletotrichum siamense*

XU Yinyi, WEI Hanwen, LIN Shaoyuan, TANG Wen, LIU Zhiqiang, LI Xiaoyu*

School of Life and Health Sciences, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China

Abstract: [Background] *Colletotrichum siamense* is one of the major pathogens infecting rubber trees, causing serious economic losses annually. CreA plays a crucial role in regulating fungal growth and development. **[Objective]** To identify the homolog of CreA, CsCreA, in *C. siamense* and analyze its biological functions. **[Methods]** The knockout mutant Δ*CscreA* and its complementation strain were constructed by homologous recombination. The roles of CsCreA in vegetative growth, stress responses, conidial production and germination, and pathogenicity of *C. siamense* were characterized. **[Results]** *CscreA* encoded a protein composed of 386 amino acid residues and containing two typical C2H2 zinc finger domains. Compared with the wild-type strain, Δ*CscreA* exhibited slow growth, increased sensitivity to H_2O_2 and Congo red, decreased sensitivity to KCl, significantly reduced conidial production and germination rate, and weakened pathogenicity. **[Conclusion]** The transcription factor CsCreA is involved in regulating the vegetative growth, stress responses, conidial production and germination, and pathogenicity of *C. siamense*.

Keywords: rubber anthracnose; *Colletotrichum siamense*; C2H2-type transcription factor; biological function

根据联合国粮农组织统计数据表明，各种病害给天然橡胶造成的损失占橡胶总产量的25%以上[1-2]。橡胶树病害大约有 90 多种，主要有炭疽病、白粉病、棒孢霉落叶病、南美叶枯病、叶斑病和死皮病等，其中炭疽病是影响橡胶树生长及产胶最主要的真菌病害之一[3]。炭疽病作为全球农业生产中常见的真菌病害之一，对农作物造成巨大经济损失，其中暹罗炭疽菌(*Colletotrichum siamense*)感染橡胶树使其出现橡胶炭疽病，最主要的病原菌之一[4]。炭疽病十分常见，除了在橡胶树和茶树等经济作物上形成之外，在芒果、草莓和辣椒等水果蔬菜也时常发生[5]。其强大的适应性和致病力，很大程度上归功于其复杂的基因调控网络，尤其是转录因子在调控其致病性、生长发育以及逆境响应中的核心作用[6]。

转录因子，作为真核生物基因表达调控的关键分子，通过特定结合的 DNA 序列调控位于下游的基因在转录过程中的活性[7]。在病原真菌中，转录因子参与了菌丝生长、分生孢子形成及致病因子合成的整个过程，对病原菌的适应性和致病性具有决定性影响[8]。CreA(Cre1)转录因子最早在黑曲霉(*Aspergillus niger*)中被发现，CreA 作为一个负调控因子，参与了碳源代谢的调节，特别是在碳源竞争抑制中发挥作用[9]。CreA 能够识别并结合到含有特定顺式作用元件(Creb)的 DNA 序列上，从而抑制那些在不利碳源条件下才能有效利用的代谢途径的基因表达[10-11]。CreA 在黄曲霉(*Aspergillus flavus*)中不仅在碳代谢调控中起作用，而且在真菌的

生长、发育以及毒素合成等方面也具有重要的调控功能[12]。斜卧青霉(*Penicillium decumbens*)中，CreA 参与纤维素酶和半纤维素酶基因的表达调控，敲除 *creA* 基因后，斜卧青霉的纤维素酶产量发生变化[13]。而在烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)中，CreA 通过负调控作用抑制非优势碳源的利用，参与真菌的生长、发育和次生代谢的调控[14-15]。然而，关于暹罗炭疽菌 CreA 转录因子的具体功能及其调控机制，目前还不清楚。

鉴于此,本研究聚焦于暹罗炭疽菌 CreA 转录因子的系统分析，旨在解析其在调控菌株生长、发育及致病性中的功能和作用机制，为深入认识暹罗炭疽菌的致病机制和开发新的防控策略提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 样品

暹罗炭疽菌(*Colletotrichum siamense*)野生型菌株 WT178 (以 WT 表示)分离自橡胶树病叶[16]；橡胶叶片采摘于海南大学农科基地；质粒载体 pCB1532、pUC18 等均保存于本实验室。

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)、马铃薯葡萄糖肉汤(potato dextrose broth, PDB)培养基、基础培养基(minimal medium, MM)、完全培养基(complete medium, CM)和蔗糖硝酸钠(Czapek-Dox, CZ)培养基等参照文献[2]配制。通过在 MM 培养基加入 KCl、NaCl、H_2O_2 等不同的胁迫试剂配制各种胁迫培养基。

1.3 主要试剂和仪器

质粒提取试剂盒和胶回收试剂盒，南京诺唯赞生物科技股份有限公司；限制性核酸内切酶，宝生物工程(大连)有限公司。凝胶成像分析仪，北京六一生物科技有限公司；PCR 仪，Eppendorf 公司。

1.4 CsCreA 生物信息学分析

从 NCBI 数据库获得暹罗炭疽菌(*C. siamense*)的 *CscreA* 基因序列。用 Primer 5 设计引物(表 1)。

1.5 *CscreA* 基因敲除及互补

刮取野生型菌株的菌丝，通过 CTAB 法提取基因组作为基因组 DNA 模板。利用同源重组(图 1)原理，用引物(表 1)对目的基因的上(CsCreAUF/CsCreAUR)、下(CsCreADF/CsCreADR)游片段分别进行扩增，将扩增后的片段分别进行酶切和回收，将回收后得到的上、下游片段与 pCB1532 载体进行连接，获得敲除载体 pKno-CsCreA。将构建好的敲除载体转入提前制备好的野生型菌株的原生质体中[17]，在含有 50 mg/L 氯嘧磺隆的 PDA 培养基上挑取转化子,用引物 CsCreAF/CsCreAR、CsCreAUU/PI、PI1/CsCreADD (表 1)进行 PCR 验证。PCR 反应体系(20 μL)：2×Premix *Taq* 10 μL，正向引物(10 μmol/L) 0.5 μL，反向引物(10 μmol/L) 0.5 μL，DNA 模板 1 μL，去离子水 8 μL。PCR 反应条件：95 ℃ 5 min；95 ℃ 0.5 min，53 ℃ 1 min，72 ℃ 1.5 min，30 次循环；72 ℃ 10 min。

以 CsCreAhbF/CsCreAhbR 为引物(表 1)，利用 PCR 扩增互补片段。PCR 反应体系设置与

表 1 引物名称及序列

Table 1 Primer name and sequence

Primer name	Sequence (5′→3′)
CsCreAF	CGTCACTCAAGGATACACAG
CsCreAR	ATCTCCACCAGCAACGCTGC
CsCreAUF	CCCAAGCTTGAGTATTCCCGTCCCACGAC
CsCreAUR	GCGTCGACGTCTGTTGCATGTGATCGCC
CsCreADF	CGGAATTCGGCAAAGTGGCATGACTTGA
CsCreADR	CCCAAGCTTCGCAGATTACGTGCGGCTTC
CsCreAUU	AGGTGCTCCGTATGGCGGGTTTGAC
PI	CAGGGTTTTCCCAGTCACGACGTTG
PI1	GTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG
CsCreADD	TTCAACAGATAGAGCGAGCGAGAGC
CsCreAhbF	CGGAATTCCTCCTAAAGCAACAATCCCT
CsCreAhbR	CGAGCTCAATGCGAAAAGGCGTGCTAC

上文中 PCR 验证的体系相同，反应条件将 PCR 验证中的延伸时间改为 4 min。PCR 扩增完成后将得到的片段用试剂盒进行回收纯化，把得到的纯化片段进行酶切以获得带有酶切口的片段，将构建的连接了潮霉素磷酸转移酶的基因作为抗性标记的 pUC18 载体，用于生成互补载体。随后，从突变体中制备出原生质体，并将已构建的互补载体导入这些原生质体中。接着，在含有 50 mg/L 潮霉素的 PDA 培养基上筛选出转化子进行培养，并提取其基因组 DNA 进行 PCR 验证(引物采用表 1 中的 CsCreAF/CsCreAR)，验证体系和反应条件均与敲除菌株的验证体系和反应条件一致。

1.6 各菌株的营养生长比较分析

将 WT、Δ*CscreA*、Δ*CscreA*-C 这 3 种菌株分别接种到 PDA、CZ、CM 和 MM 培养基上，每个处理设置 3 个重复，在 28 ℃无光照条件下培养，在培养时长达到 5 d 时，用刻度尺测量菌落直径，记录后进行比较和分析。

1.7 不同胁迫因子对各菌株的影响比较分析

将 WT、Δ*CscreA*、Δ*CscreA*-C 这 3 种菌株同时接种到 4 种培养基上(普通 MM 培养基和 3 种分别添加了 1.0 mol/L KCl、0.2 g/L 刚果红和 10 mmol/L H_2O_2 的 MM 培养基)，其中以接种到普通 MM 培养基为对照。各胁迫培养基和 MM 培养基的 pH 值为 6.5，每个菌株做 3 个重复，在 28 ℃无光照条件下培养，在培养时长达到 5 d 时，用刻度尺测量各菌落直径并计算抑制率。抑制率计算公式：

抑制率(%)=(对照组菌落直径–实验组菌落直径)/对照组菌落直径×100。

1.8 分生孢子产量与萌发能力比较分析

将各菌株分别接种于 PDB 培养基中，28 ℃、120 r/min 振荡培养，每个菌株 3 个重复，在培养时长达到 3、5、7 d 时取孢子液，用纱布过滤后得到无菌丝的孢子悬液，用显微镜和血球计数板统计暹罗炭疽菌分生孢子产量。分生孢子悬液经 12 000 r/min 离心 1 min 后收集孢子，用同体积的无菌水重悬，依据分生孢子产量对孢子悬液进行适当稀释或浓缩，调整孢子悬液的孢子浓度为 1×10^6 个/mL。在载玻片上滴加孢子悬液(每次滴加的体积为 20 μL)，28 ℃条件下密封保湿培养 8 h 后用显微镜观察孢子萌发的情况并拍照记录，计算各菌株的萌发率，做 3 个重复。

1.9 橡胶叶片致病性的分析

选取无病斑的橡胶叶片，用无菌的针头在

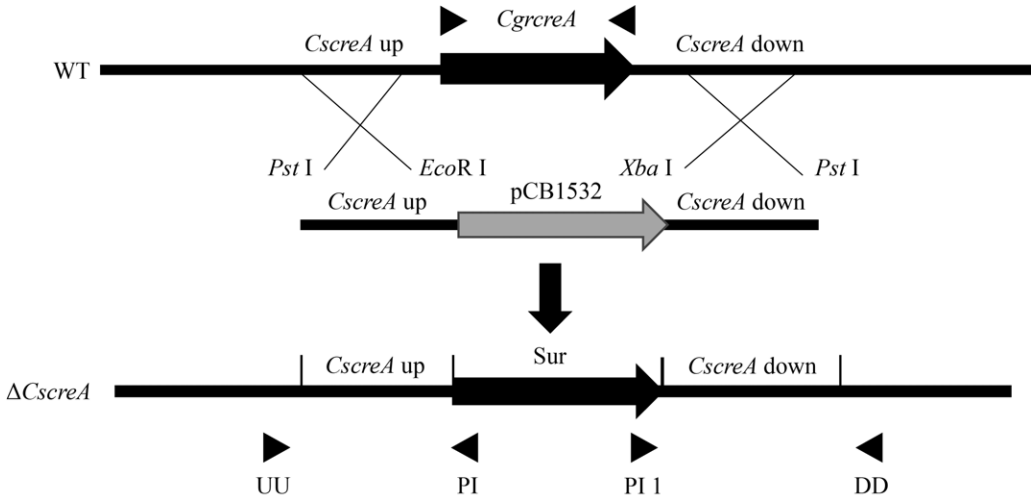

图 1 *CscreA* 基因敲除原理

Figure 1 The principle of *CscreA* gene knockout.

叶片表面制造微伤口，然后分别以菌饼和分生孢子悬液(5×10^5 个/mL) 2 种方式接种叶片伤口处[18]，菌饼接种试验以接种 PDA 菌饼的伤口作为空白对照，孢子悬液接种试验则以接种无菌水的伤口处作为空白对照。每个处理 3 个重复，在日常光照条件下 28 ℃保湿培养 3 d，观察橡胶叶上的病斑情况。

1.10 数据分析

利用软件 GraphPad Prism8 绘制各统计数据的统计图，用 SPSS 单因素方差分析进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 生物信息学分析结果

暹罗炭疽菌中 *CscreA* 编码的蛋白 CsCreA 长度为 386 个氨基酸，其氨基酸链上具有 2 个典型的 C2H2 蛋白结构域(图 2A)。通过蛋白多序列比对，观察到 CsCreA 具有一定保守性，在禾谷炭疽菌(*C. graminicola*)、构巢曲霉(*A. nidulans*)、烟曲霉(*A. fumigatus*)中均有较高的同源性(图 2B)，其编码 C2H2 结构域的区域具有较高的保守性。

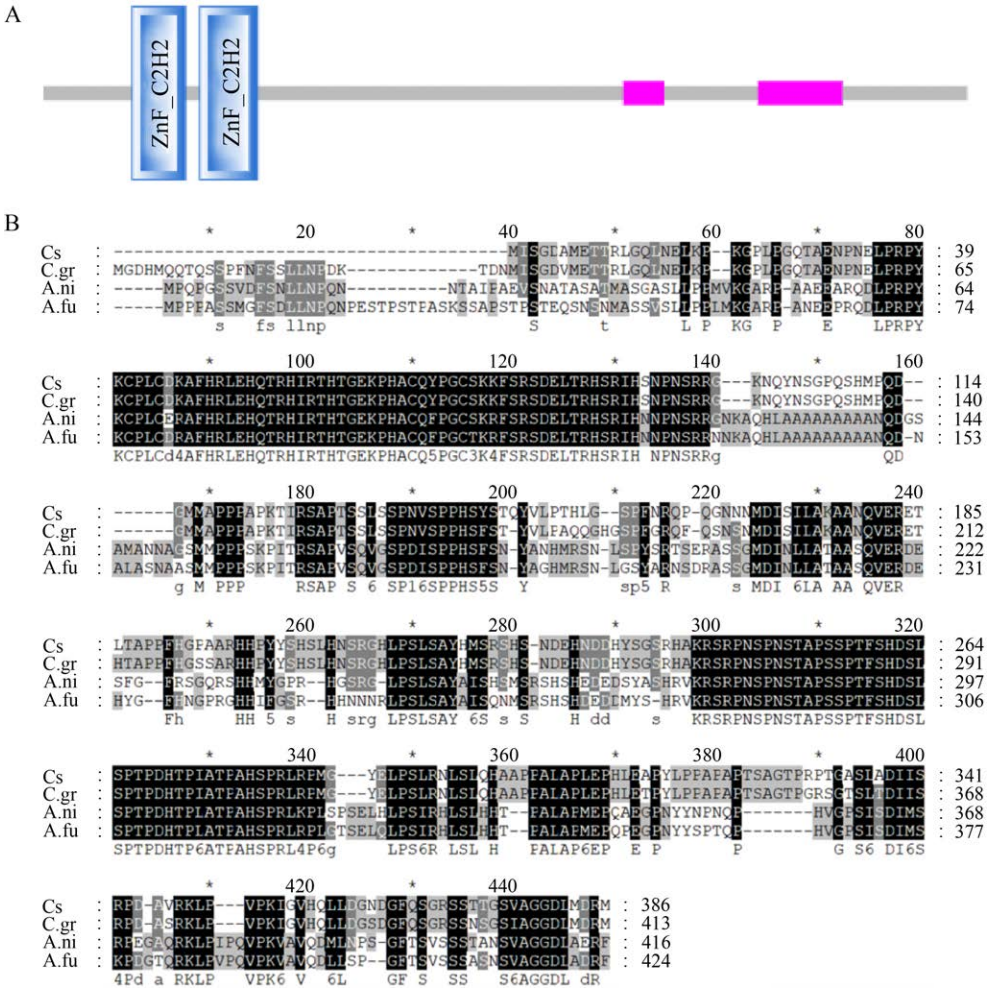

图 2 CsCreA 的生物信息学数据 A：CsCreA 的蛋白质结构域数据；B：CsCreA 的蛋白序列比对。Cs：暹罗炭疽菌；C.gr：禾谷炭疽菌；A.ni：构巢曲霉；A.fu：烟曲霉。

Figure 2 The bioinformatics data of CsCreA. A: The protein domain data of CsCreA; B: The protein sequence alignment of CsCreA. Cs: *C. siamense*; C.gr: *C. graminicola*; A.ni: *A. nidulans*; A.fu: *A. fumigatus*.

2.2 突变菌株 Δ*CscreA* 与互补菌株 Δ*CscreA*-C 的验证

对各转化子进行 2 轮验证，通过引物(表 1) CsCreAF/CsCreAR 的验证结果(图 3A)，观察到在 2、3、4 泳道的敲除突变体的 1、5、7 号转化子没有扩增出目的性条带，而 5 号泳道的互补菌株的转化子成功扩增出目的性条带，由此可以确定 5 号泳道的转化子为互补菌株。利用引物 CsCreAUU/PI 和 PI1/CsCreADD (表 1)对敲除突变体的 1、5、7 号转化子进行进一步验证的结果(图 3B、3C)可以发现：敲除突变体的 1、5、7 号转化子均扩增出了目的条带，由此可以确定 1、5、7 号转化子为敲除突变体。

2.3 CsCreA 对暹罗炭疽菌营养生长的影响

从各菌株在 PDA、CM、CZ 和 MM 培养基上的生长情况(图 4A、4B)来看，菌株在 PDA 培养基上培养 5 d 后，野生型菌株的菌落直径达到 70 mm 以上，互补菌株也达到了同样的生长程度，相比之下敲除突变菌株的菌落直径平均仅为 32 mm，约为野生型的 50%，与野生型菌株存在显著差异；在其他 3 种培养基上，突变株也表现出相似的现象，营养生长显著减少(图 4A、4B)。由此可见，CsCreA 参与调控暹罗炭疽菌的营养生长。

2.4 CsCreA 对暹罗炭疽菌胁迫响应的影响

在含有 1 mol/L KCl 的 MM 培养基上，KCl 对野生型菌株的抑制率达到 40%，而对突变菌株的抑制率仅为 10%，突变菌株对 KCl 的抗性明显增强(图 5A)。10 mmol/L H_2O_2 对 Δ*CscreA* 的抑制率达到 60%左右，显著高于野生型菌株，说明 *CscreA* 的敲除减低了菌株对 H_2O_2 的耐受性(图 5B)。此外，在刚果红(congo red, CR)中野生型受抑制比例为 17%，对突变体而言该比例达到了 33%，因而存在显著差异(图 5C)。互补菌株的统计结果表明：互补菌株具有和野生型相似的表现。以上结果表明，CsCreA 参与调控暹罗炭疽菌对高渗和氧化应激、细胞壁完整性的响应。

2.5 CsCreA 对暹罗炭疽菌分生孢子产量和分生孢子萌发的影响

从分生孢子产量统计结果来看(图 6A)，Δ*CscreA* 的产量显著低于野生型菌株和互补菌株。

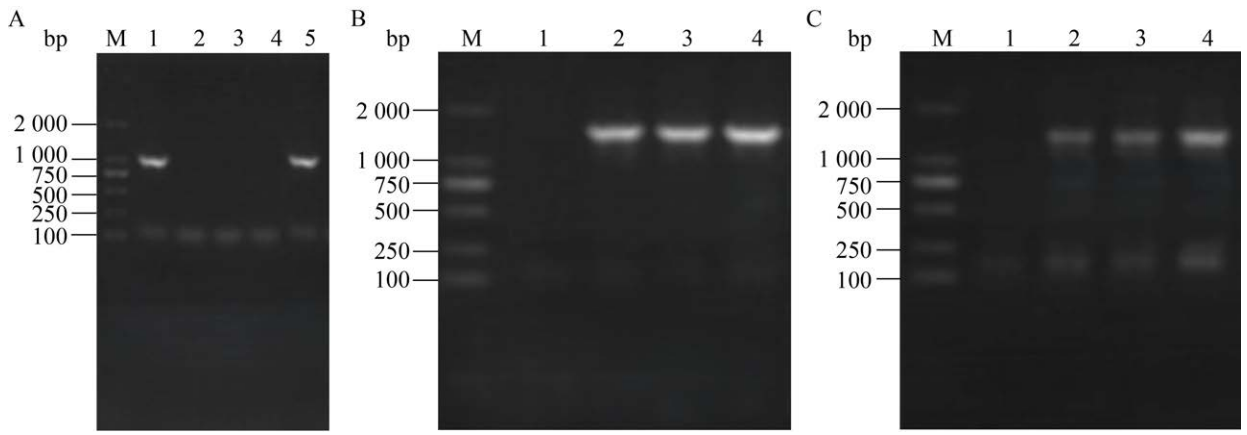

图 3 *CscreA* 基因敲除及互补的 PCR 验证 A：引物 CsCreAF/CsCreAR；B：引物 CsCreAUU/PI；C：引物 PI1/CsCreADD。M：DL2000 DNA marker；1：野生型菌株；2：Δ*CscreA*-1；3：Δ*CscreA*-5；4：Δ*CscreA*-7；5：Δ*CscreA*-C。

Figure 3 PCR verification of *CscreA* gene knockout and complementation. A: Primers CsCreAF/CsCreAR; B: Primers CsCreAUU/PI; C: Primers PI1/CsCreADD. M: DL2000 DNA marker; 1: WT; 2: Δ*CscreA*-1; 3: Δ*CscreA*-5; 4: Δ*CscreA*-7; 5: Δ*CscreA*-C.

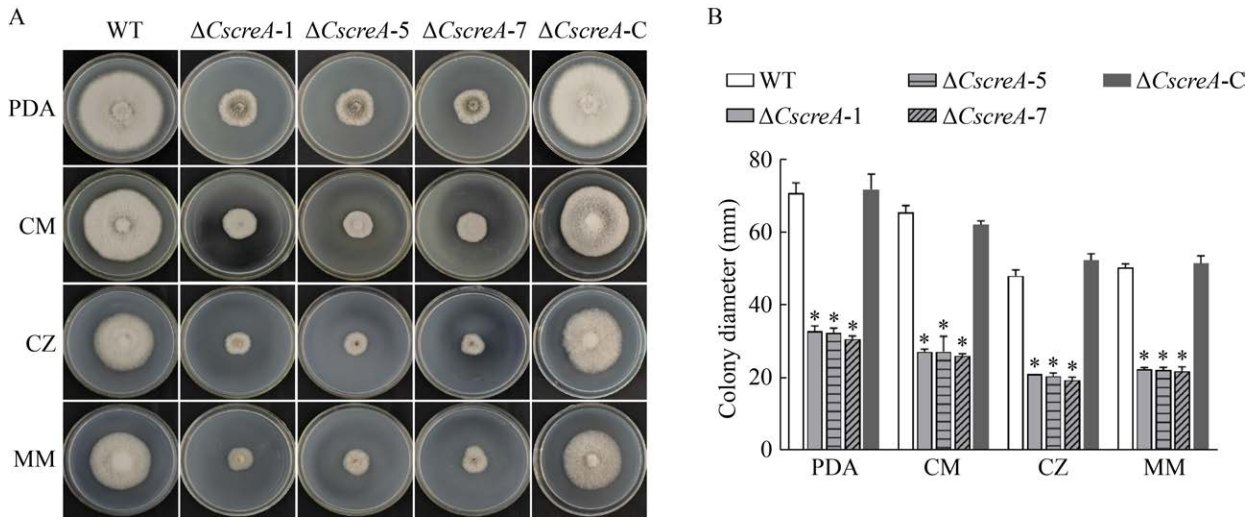

图 4　菌株在不同培养基上的生长情况(A)和菌落直径(B)

Figure 4　Growth status (A) and colony diameter (B) of bacterial strains on various media. *: $P<0.05$.

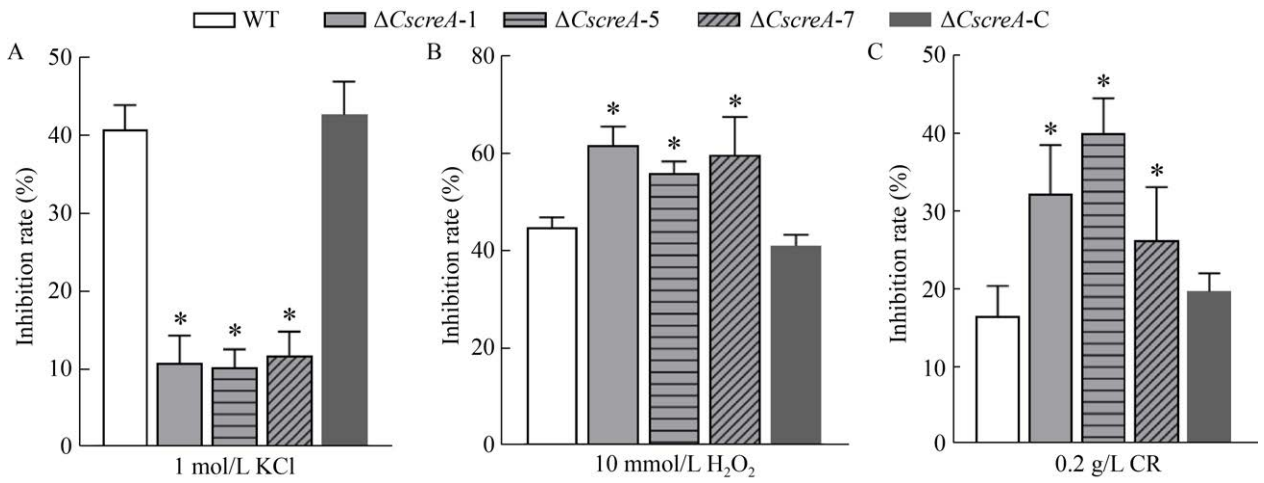

图 5　不同胁迫因子对野生型菌株、突变菌株和互补菌株的抑制率　A：氯化钾；B：过氧化氢；C：刚果红。

Figure 5　Inhibition rates of different stress factors on wild-type strains, mutant strains, and complementary strains. A: KCl; B: H_2O_2; C: Congo red (CR). *: $P<0.05$.

在 3 d 时差距尤为明显,具体表现为突变菌株在 3 d 时的平均孢子产量为 5×10^5 个/mL，仅为野生型菌株的 5%。而在培养时间达到 5 d 和 7 d 时差距有所缩小，但突变菌株孢子产量也仅达到野生型菌株的 24.8%和 32.5%左右，由此得出，CsCreA 参与调控暹罗炭疽菌分生孢子产生方面的调控。收集各菌株在 PDB 液体培养基中产生的孢子悬液，以相同的孢子浓度在玻璃载玻片上进行萌发试验，结果显示：Δ*CscreA* 突变株的孢子萌发率明显降低，平均萌发率在 10%，不足野生型和互补菌株的 1/5 (图 6B)。但从分生孢子形态上来看，Δ*CscreA* 突变株与野生型无显著差异(图 6C)。

2.6　CsCreA 对暹罗炭疽菌致病性的影响

橡胶叶片上致病性试验结果显示：以分生孢子悬液进行接种时，*CscreA* 敲除突变体形成

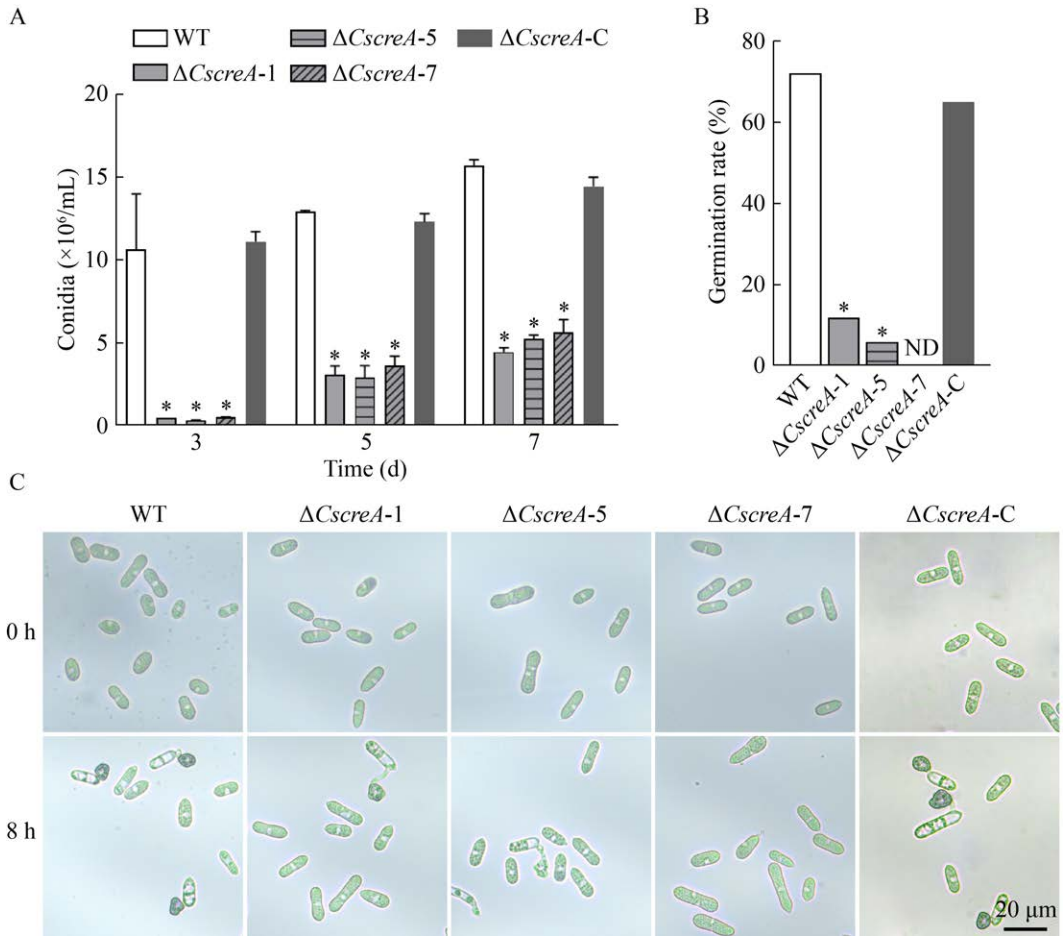

图 6　野生型、敲除突变体及互补株的分生孢子产量和萌发　A：分生孢子产量；B：萌发率(ND：未检出)；C：分生孢子形态。

Figure 6　Conidial production and germination of the wild type, gene-knockout mutants and complemented strains. A: Statistical analysis of conidial production; B: Germination rate (ND: Not detected); C: Conidial morphology. *: $P<0.05$.

的病斑明显小于野生型及互补株。并且在接种菌饼时，在橡胶叶上形成的病斑结果显示出同样的结果。这说明，*CscreA* 敲除突变体的致病力减弱(图 7A、7B)。接种 3 d 后，2 种接种方式产生的病斑直径约为野生型菌株的 55% (图 7C)。由此可见，CsCreA 参与调控暹罗炭疽菌的致病性。

3　讨论

转录因子 CreA 属于经典的锌指蛋白 C2H2 转录因子，它含有一个典型的 Cys2His2 锌指结构域。研究发现，C2H2 型转录因子参与丝状真菌生长发育、胁迫应答、分生孢子的产生及萌发和致病性等方面调控[19-20]。目前，针对转录因子 CreA 的研究主要集中于生物学功能及其参与调控碳代谢阻遏的机制[12,21]。在真菌的生长发育过程中，CreA 不仅参与碳代谢的调控，还可能影响真菌的形态建成、孢子形成和菌丝分化等过程[22]。同时，也有研究表明，转录因子 CreA 参与氨基酸代谢、感染的建立、酶的产生、碳水化合物的储存、次生代谢产物的产生及染色质重塑等多个方面[23-24]。本研究探索了

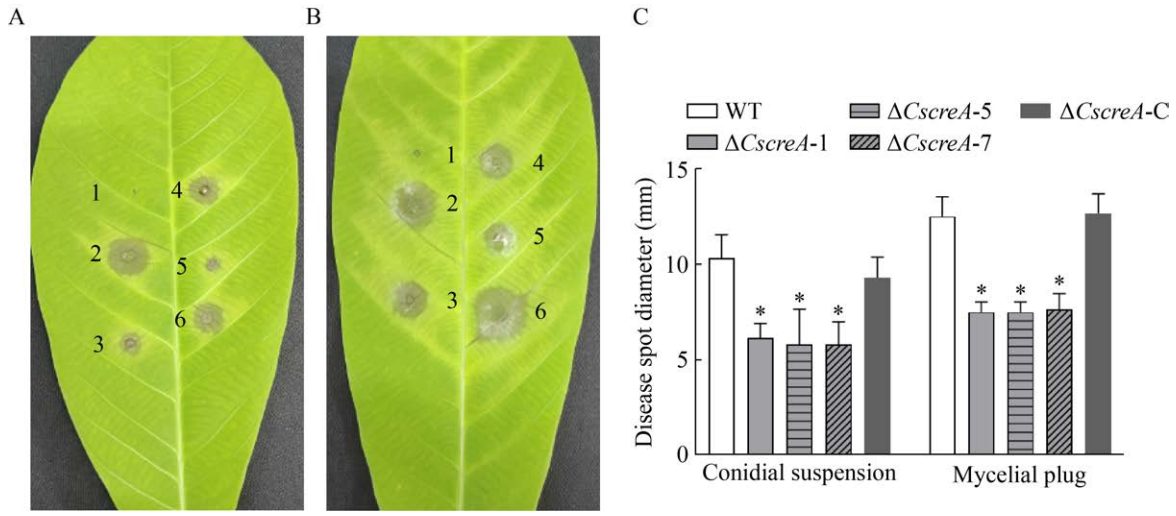

图 7　菌株在橡胶叶片上的毒力测定　A：分生孢子悬液接种；B：菌饼接种；C：病斑直径统计。
Figure 7　Virulence assays of strains on rubber tree leaves. A: Conidial suspension inoculation; B: Mycelial plug inoculation. 1: CK; 2: WT; 3: Δ*CscreA*-1; 4: Δ*CscreA*-5; 5: Δ*CscreA*-7; 6: Δ*CscreA*-C. C: Statistical analyses of lesion diameters (*: $P<0.05$).

暹罗炭疽菌中 CsCreA 的生物学特性，并发现其具有某种程度的生物学功能保守性。

CsCreA 在暹罗炭疽菌的菌落菌丝生长速率方面有调控作用，在本研究中可以观察到 Δ*CscreA* 生长速率明显下降，并且中心部分的菌丝颜色明显变深。在黄曲霉中，突变菌株 Δ*CreA* 同样表现为生长减缓，菌落形态发生变化[12]。在深绿木霉(*Trichoderma atroviride*)中，*CreA* 基因的沉默可造成菌株生长显著减缓[25]。此外，CsCreA 参与调控暹罗疽菌对 KCl、H_2O_2 和刚果红的敏感性。在黄曲霉中，1 mol/L 的 KCl 对野生型菌株有抑制作用，但对突变菌株的生长有促进作用，并且在 1 mol/L NaCl 中也表现出同样的现象[12]。此外，黄曲霉中突变菌株 Δ*CreA* 对 0.01%十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)较野生型更加敏感[12]。与黄曲霉不同，本研究中 1 mol/L KCl 对野生型菌株和突变菌株均表现为抑制作用，但对突变菌株的抑制作用显著减弱。

CsCreA 参与调控分生孢子产量及其萌发。在黄曲霉中，*CreA* 敲除突变菌株的孢子产量明显低于野生型菌株，在 PDA 培养基中 3 d 时甚至不足野生型的 10%，4 d 时接近 20%左右，这与本研究中的结果相似[12]。在深绿木霉中，突变体 Δ*CreA* 产孢滞后，并且产孢量明显减少(仅为野生型的 10%左右)[26-27]。在孢子萌发方面，本实验中的突变菌株 Δ*CscreA* 的萌发率明显低于野生型菌株，但其孢子形态和野生型无明显区别。

CsCreA 参与调控暹罗炭疽菌致病性。暹罗炭疽菌的侵染主要通过其产生的特殊结构——附着胞来实现，附着胞能够穿透植物表皮，进入寄主组织，引发病害[28-29]。本研究中突变体 Δ*CreA* 的致病性不论是孢子悬液还是菌块都有所减弱，为野生型菌株的55%左右。造成其致病性减弱的原因可能是 CreA 的敲除造成菌丝生长缓慢、孢子产量和萌发率降低，进而引起致病力减弱。在黄曲霉中，突变体 Δ*CreA* 在表现出致病力减弱的同时其毒素的产量也出现了显著的降低，其致病力下降为野生型的 50%左右[12]。

4　结论

本研究揭示了暹罗炭疽菌中转录调控因子 CsCreA 的作用，它涉及调节营养生长、对 KCl、

H_2O_2 和刚果红的敏感反应、分生孢子的形成与萌发以及致病能力等多个方面。这一发现为深入理解暹罗炭疽菌中 CreA 蛋白在生长发育阶段的功能特性提供了重要基础。

作者贡献声明

许寅翼：表型分析研究，数据分析，初稿写作；韦涵文：载体构建及转化；林少园：生物信息学分析；唐雯：突变体筛选及验证；柳志强：论文构思、指导；李晓宇：论文构思，审核及编辑写作，基金获取。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

[1] 余卓桐, 罗大全, 谢艺贤, 黄武仁, 张运强, 冯淑芬, 陈慕容, 王绍春. 橡胶树主要病害防治决策模型研究[J]. 中国热带农业, 2006(3): 26-29.
YU ZT, LUO DQ, XIE YX, HUANG WR, ZHANG YQ, FENG SF, CHEN MR, WANG SC. Research on the decision-making model for controlling major diseases of rubber trees[J]. China Tropical Agriculture, 2006(3): 26-29 (in Chinese).

[2] 吴曼莉, 胡坚, 张楠, 柯智健, 柳志强, 李晓宇. CgRGS7 调控胶孢炭疽菌分生孢子产量、附着胞形成及致病性[J]. 西南农业学报, 2017, 30(8): 1802-1807.
WU ML, HU J, ZHANG N, KE ZJ, LIU ZQ, LI XY. CgRGS7 regulation of conidium production, appressorium formation and pathogenicity in *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2017, 30(8): 1802-1807 (in Chinese).

[3] 李博勋, 刘先宝, 陈丽琼, 时涛, 许力丹, 李超萍, 黄贵修. 橡胶树主要病害研究现状与展望[J]. 中国科学: 生命科学, 2024, 54(10): 1798-1813.
LI BX, LIU XB, CHEN LQ, SHI T, XU LD, LI CP, HUANG GX. Current status and prospects of research on main diseases of rubber trees[J]. Scientia Sinica (Vitae), 2024, 54(10): 1798-1813 (in Chinese).

[4] 徐从英, 王萌, 梁晓宇, 马腾, 杨叶, 张宇. 云南西双版纳地区橡胶树炭疽病菌的系统进化分析和室内药剂筛选[J]. 西南农业学报, 2021, 34(12): 2653-2658.
XU CY, WANG M, LIANG XY, MA T, YANG Y, ZHANG Y. Phylogenetic analysis and fungicide screening for *Colletotrichum* causing rubber anthracnose in Xishuangbanna, Yunnan[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2021, 34(12): 2653-2658 (in Chinese).

[5] 苏慧君, 安邦, 黎秀菊, 罗红丽. 橡胶树胶孢炭疽病菌 Cg4LysM 基因对菌丝生长的影响[J]. 分子植物育种, 2017, 15(6): 2187-2194.
SU HJ, AN B, LI XJ, LUO HL. Effects of *Colletotrichum gloeosporioides* Cg4LysM on mycelial growth of rubber tree[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(6): 2187-2194 (in Chinese).

[6] 杨春霞, 哈佳欣, 徐克, 王建寰, 吴秀丽, 刘成. 胶孢炭疽菌生物防治研究进展[J]. 北方园艺, 2023(5): 132-139.
YANG CX, HA JX, XU K, WANG JH, WU XL, LIU C. Research progress on biological control of *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Northern Horticulture, 2023(5): 132-139 (in Chinese).

[7] KUSUYA Y, HAGIWARA D, SAKAI K, YAGUCHI T, GONOI T, TAKAHASHI H. Transcription factor Afmac1 controls copper import machinery in *Aspergillus fumigatus*[J]. Current Genetics, 2017, 63(4): 777-789.

[8] YUN YZ, ZHOU X, YANG S, WEN Y, YOU HX, ZHENG YR, NORVIENYEKU J, SHIM WB, WANG ZH. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* C_2H_2 transcription factor FolCzf1 is required for conidiation, fusaric acid production, and early host infection[J]. Current Genetics, 2019, 65(3): 773-783.

[9] 黄良刚. 黑曲霉基因组水平的转录调控机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
HUANG LG. Study on the transcriptional regulation of *Aspergillus niger* on a genomic scale[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020 (in Chinese).

[10] VERMA S, GAZARA RK, VERMA PK. Transcription factor repertoire of necrotrophic fungal phytopathogen *Ascochyta rabiei*: predominance of MYB transcription factors as potential regulators of secretome[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1037.

[11] PENG M, KHOSRAVI C, LUBBERS RJM, KUN RS, AGUILAR PONTES MV, BATTAGLIA E, CHEN C, DALHUIJSEN S, DALY P, LIPZEN A, NG V, YAN JY, WANG M, VISSER J, GRIGORIEV IV, MÄKELÄ MR, de VRIES RP. CreA-mediated repression of gene expression occurs at low monosaccharide levels during fungal plant biomass conversion in a time and substrate dependent manner[J]. Cell Surface, 2021, 7: 100050.

[12] FASOYIN OE, WANG B, QIU MG, HAN XY, CHUNG KR, WANG SH. Carbon catabolite repression gene creA regulates morphology, aflatoxin biosynthesis and virulence in *Aspergillus flavus*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2018, 115: 41-51.

[13] 李忠海. 斜卧青霉高效基因打靶系统的构建与转录调控因子 CreA 功能的研究[D]. 济南: 山东大学, 2010.
LI ZH. Development of a highly efficient gene targeting system and functional analysis of the transcriptional regulator CreA in *Penicillium decumbens*[D]. Jinan: Shandong University, 2010 (in Chinese).

[14] STRAUSS J, HORVATH HK, ABDALLAH BM, KINDERMANN J, MACH RL, KUBICEK CP. The function of CreA, the carbon catabolite repressor of *Aspergillus nidulans*, is regulated at the transcriptional and post-transcriptional level[J]. Molecular Microbiology, 1999, 32(1): 169-178.

[15] MATHIEU M, FELENBOK B. The *Aspergillus nidulans* CREA protein mediates glucose repression of the ethanol regulon at various levels through

competition with the ALCR-specific transactivator[J]. EMBO Journal, 1994, 13(17): 4022-4027.
[16] 王地广, 张兴媛, 刘沙玉, 唐雯, 柳志强. 橡胶树暹罗炭疽菌 Zn_2Cys_6 型转录因子 CsGcc1 的生物学功能[J]. 微生物学通报, 2022, 49(10): 4255-4268.
WANG DG, ZHANG XY, LIU SY, TANG W, LIU ZQ. Biological functions of the Zn_2Cys_6 transcription factor CsGcc1 in *Colletotrichum siamense*[J]. Microbiology China, 2022, 49(10): 4255-4268 (in Chinese).
[17] LI XY, WU YT, LIU ZQ, ZHANG CH. The function and transcriptome analysis of a bZIP transcription factor CgAP1 in *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Microbiological Research, 2017, 197: 39-48.
[18] 刘欢庆, 周双针, 高菁, 王金泓, 唐雯, 柳志强, 李晓宇. 暹罗炭疽菌同源异型盒转录因子 CsHtf1 的生物学功能[J]. 微生物学通报, 2023, 50(12): 5350-5362.
LIU HQ, ZHOU SZ, GAO J, WANG JH, TANG W, LIU ZQ, LI XY. Biological function of a homeobox transcription factor CsHtf1 in *Colletotrichum siamense*[J]. Microbiology China, 2023, 50(12): 5350-5362 (in Chinese).
[19] 张兴媛, 王地广, 高菁, 唐雯, 李晓宇. 胶孢炭疽菌 C_2H_2 型转录因子CgGcp1的生物学功能[J]. 微生物学通报, 2022, 49(7): 2587-2598.
ZHANG XY, WANG DG, GAO J, TANG W, LI XY. Biological functions of a C_2H_2 transcription factor CgGcp1 in *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Microbiology China, 2022, 49(7): 2587-2598 (in Chinese).
[20] SCHUMACHER J, de LARRINOA IF, TUDZYNSKI B. Calcineurin-responsive zinc finger transcription factor CRZ1 of *Botrytis cinerea* is required for growth, development, and full virulence on bean plants[J]. Eukaryotic Cell, 2008, 7(4): 584-601.
[21] MÄKELÄ MR, AGUILAR-PONTES MV, van ROSSEN-UFFINK D, PENG M, de VRIES RP. The fungus *Aspergillus niger* consumes sugars in a sequential manner that is not mediated by the carbon catabolite repressor CreA[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 6655.
[22] de ASSIS LJ, SILVA LP, BAYRAM O, DOWLING P, KNIEMEYER O, KRÜGER T, BRAKHAGE AA, CHEN YY, DONG LG, TAN K, WONG KH, RIES LNA, GOLDMAN GH. Carbon catabolite repression in filamentous fungi is regulated by phosphorylation of the transcription factor CreA[J]. mBio, 2021, 12(1): e03146-20.
[23] DOWZER CE, KELLY JM. Analysis of the *creA* gene, a regulator of carbon catabolite repression in *Aspergillus nidulans*[J]. Molecular and Cellular Biology, 1991, 11(11): 5701-5709.
[24] RIES LNA, BEATTIE SR, ESPESO EA, CRAMER RA, GOLDMAN GH. Diverse regulation of the CreA carbon catabolite repressor in *Aspergillus nidulans*[J]. Genetics, 2016, 203(1): 335-352.
[25] STRAUSS J, MACH RL, ZEILINGER S, HARTLER G, STÖFFLER G, WOLSCHEK M, KUBICEK CP. Crel, the carbon catabolite repressor protein from *Trichoderma reesei*[J]. FEBS Letters, 1995, 376(1/2): 103-107.
[26] 李佩忆, 周于聪, 李雅乾, 陈捷. 深绿木霉中碳代谢抑制因子 CRE1 功能特性研究[J]. 中国生物工程杂志, 2018, 38(6): 17-25.
LI PY, ZHOU YC, LI YQ, CHEN J. Study on functional properties of carbon catabolite repressor CRE1 in *Trichoderma atroviride*[J]. China Biotechnology, 2018, 38(6): 17-25 (in Chinese).
[27] MUKHERJEE PK, HORWITZ BA, HERRERA-ESTRELLA A, SCHMOLL M, KENERLEY CM. *Trichoderma* research in the genome era[J]. Annual Review of Phytopathology, 2013, 51: 105-129.
[28] de ASSIS LJ, ULAS M, RIES LNA, EL RAMLI NAM, SARIKAYA-BAYRAM O, BRAUS GH, BAYRAM O, GOLDMAN GH. Regulation of *Aspergillus nidulans* CreA-mediated catabolite repression by the F-box proteins Fbx23 and Fbx47[J]. mBio, 2018, 9(3): e00840-18.
[29] 郑肖兰, 李秋洁, 许沛冬, 吴伟怀, 梁艳琼, 郑金龙, 习金根, 李锐, 黄兴, 李乐, 杨青青, 贺春萍, 易克贤. 胶孢炭疽菌致病相关基因 Plv2 功能分析[J]. 植物病理学报, 2017, 47(5): 619-629.
ZHENG XL, LI QJ, XU PD, WU WH, LIANG YQ, ZHENG JL, XI JG, LI R, HUANG X, LI L, YANG QQ, HE CP, YI KX. Functional analysis of the pathogenicity-related gene Plv2 in *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2017, 47(5): 619-629 (in Chinese).