

## 食线虫真菌基因组测序和分析研究进展

马妮 杨雪伟 甄政毅 郑雅情 杨乐 李青 张克勤 杨金奎\*

(云南大学 省部共建云南生物资源保护与利用国家重点实验室 云南 昆明 650091)

**摘要:** 食线虫真菌作为线虫的天敌, 是一种潜在的线虫病害的生防制剂。食线虫真菌通过形成特殊的捕食器官或产生粘性孢子和毒素等方式捕捉和侵染线虫。近年来, 随着测序技术的进步和生物信息学的应用, 越来越多真菌基因组已经被测定和报道。目前, 已经有7种食线虫真菌的基因组被报道, 包括捕食线虫真菌寡孢节丛孢(*Arthrobotrys oligospora*)、线虫卵寄生真菌厚垣普可尼亚菌(*Pochonia chlamydosporia*)和内寄生真菌明尼苏达被毛孢(*Hirsutella minnesotensis*)等。本文对食线虫真菌的基因组特点、毒力相关基因家族的扩张、捕食器官形成调控和进化机制进行了系统地总结, 对组学时代食线虫真菌研究面临的关键问题进行了评述。

**关键词:** 食线虫真菌, 基因组, 捕食器官(捕器), 毒力基因, 分子进化

## Research progress on genome sequencing and analysis of nematophagous fungi

MA Ni YANG Xue-Wei ZHEN Zheng-Yi ZHENG Ya-Qing YANG Le  
LI Qing ZHANG Ke-Qin YANG Jin-Kui\*

(State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China)

**Abstract:** Nematophagous fungi (NTF) serve as natural enemies of nematodes, which are potential biocontrol agents for plant-parasitic nematodes. NTF can attack and kill nematodes through producing specialized capturing devices, adhesive conidia or toxins. In recent years, with the advances in sequencing technology and the application of bioinformatics, more and more fungal genomes have been sequenced and reported. At present, genomes of seven NTF, including the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*, the egg and cyst-parasitic fungus *Pochonia chlamydosporia* and the endoparasitic fungus *Hirsutella minnesotensis*, etc., have been sequenced and reported. In this paper, the genomic characteristics, the expansion of virulence-related gene families, the regulation of trap formation and evolution of NTF were systematically summarized, and key problems of NTF in the omics era were reviewed.

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (U1402265, 31360019); Program for Excellent Young Talents of Yunnan University

\*Corresponding author: Tel: 86-871-65032538; E-mail: jinkui960@ynu.edu.cn

Received: June 04, 2017; Accepted: July 03, 2017; Published online (www.cnki.net): August 15, 2017

基金项目: 国家自然科学基金(U1402265, 31360019); 云南大学青年英才培育计划项目

\*通信作者: Tel: 86-871-65032538; E-mail: jinkui960@ynu.edu.cn

收稿日期: 2017-06-04; 接受日期: 2017-07-03; 网络首发日期(www.cnki.net): 2017-08-15

**Keywords:** Nematophagous fungi, Genome, Trapping devices (Traps), Virulence genes, Molecular evolution

食线虫真菌是指寄生、捕捉、定殖和毒害线虫的一类真菌,涉及接合菌、半知菌、担子菌和子囊菌等,它们是线虫的天敌,在植物寄生线虫的生物防治中起着重要的作用<sup>[1]</sup>。根据侵染线虫的方式,它们可以分为捕食线虫真菌(Nematode-trapping fungi)、线虫内寄生真菌(Endoparasitic fungi)、线虫卵寄生真菌(Egg-parasitic fungi)和产毒真菌(Toxin-producing fungi)四大类群<sup>[2]</sup>。其中捕食线虫真菌是指以营养菌丝特化形成的粘性球、粘性网、非收缩环和收缩环等捕食器官(捕器)捕捉线虫的真菌;线虫内寄生真菌是指通过特殊的孢子寄生于游离的活线虫体内的一类真菌;线虫卵寄生真菌是专性或兼性定殖于线虫的卵、雌虫和胞囊等的一类真菌<sup>[2]</sup>。食线虫真菌是一种潜在的线虫生防制剂,目前已经有多种食线虫真菌被开发成产品用于线虫病害的防治,如淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus* syn. *Purpureocillium lilacinum*)<sup>[3]</sup>和厚垣普可尼亚菌(*Pochonia chlamyosporia*)<sup>[4]</sup>。

近年来,随着测序技术的快速发展,已经有7种食线虫真菌的基因组被报道,包括3种捕食线虫真菌寡孢节丛孢(*Arthrobotrys oligospora*)<sup>[5]</sup>、坚粘孢单顶孢(*Monacrosporium haptotylum* syn. *Dactylellina haptotyla*)<sup>[6]</sup>和产生收缩环的真菌 *Drechslerella stenobrocha*<sup>[7]</sup>、线虫卵寄生真菌淡紫拟青霉(*P. lilacinum*)<sup>[8]</sup>和厚垣普可尼亚菌(*P. chlamyosporia*)<sup>[9]</sup>、内寄生真菌明尼苏达被毛孢(*Hirsutella minnesotensis*)<sup>[10]</sup>和 *Drechmeria coniospora*<sup>[11]</sup>。这些菌株基因组的测序和分析进一步加深了人们对食线虫真菌分子背景的了解,有助于分析这一特殊类群真菌的菌丝生长和发育调控的分子机制、以及致病基因等基因家族的扩张现象,有助于阐明真菌与线虫宿主间复杂的相互作用机制,对于高效线虫生防制剂的开发具有重要的指导意义。

## 1 捕食线虫真菌和线虫内寄生真菌捕食线虫的特点

### 1.1 捕食线虫真菌的捕器及捕捉线虫的特点

捕食线虫真菌的捕器由营养菌丝分化形成,形态多样。捕器的类型取决于真菌的种类以及生物和非生物的环境条件<sup>[12-13]</sup>。最重要的生物因子是活线虫,它不仅通过接触菌丝体诱导捕器的形成,而且被真菌侵染后成为食物来源<sup>[14]</sup>。捕器的类型已有系统研究,其中形成三维菌网的真菌相对较多。捕食线虫真菌的模式种 *A. oligospora* 就是通过三维菌网来捕获线虫(图 1A),三维菌网的形成是许多菌丝连锁的结果,菌网的第一个环从营养菌丝的初始分支分化形成<sup>[14,19]</sup>。另一种常见的捕器粘性球是一种球状或近球形的粘性细胞,其在1-3个细胞组成的纤细、直立和非粘性茎的菌丝上或顶点处形成(图 1B)<sup>[20]</sup>。而一些真菌的营养菌丝的直立侧枝变厚、弯曲,在支撑茎上形成通常三孔的环就是非收缩环(图 1C)<sup>[20-21]</sup>。以上这些捕器的表面都覆盖粘性物质层来捕获线虫<sup>[16]</sup>。此外,收缩环也是一种典型的捕器,它最早由 Drechsler (1937)报道,每个环由3个弯曲的细胞组成(图 1D)<sup>[22-23]</sup>。尽管捕器形态多样,从分子数据推断的系统发育分析表明大多数捕食线虫真菌属于由圆盘菌目(子囊菌门)<sup>[20,24]</sup>组成的单系群。此外,研究表明捕食线虫真菌的捕器沿着两个主要谱系进化:一支是产生收缩环的真菌;另一支是形成粘性捕器的真菌,包括三维菌网、粘性球和粘性分支等<sup>[25]</sup>。收缩环捕捉线虫的机制与粘性捕器不同<sup>[26]</sup>。收缩环由3个细胞组成,当线虫进入环时,细胞迅速膨胀,线虫被捕获。收缩环的收缩是由线虫对其细胞的压力而触发,并且闭合非常迅速,只需0.1 s,然后菌丝会穿透并逐渐消化线虫<sup>[27]</sup>。而粘性捕器被一层纤维状胞外聚合物包围,通过表面的粘性物质粘附线虫后,由菌丝侵入并消解线虫。

## 1.2 线虫内寄生真菌和卵寄生真菌侵染线虫的特点

根据侵染线虫方式的不同, 线虫内寄生真菌的孢子分为成囊孢子(Encysting spore)、粘性孢子(Adhesive conidium)和吞食孢子(Ingested conidium)三类<sup>[2]</sup>。线虫内寄生真菌 *Myzocytiium* 的许多种都能产生成囊孢子, 成囊孢子侵染线虫的方式是通过其游动孢子囊产生有鞭毛的游动孢子, 遇到线虫后鞭毛脱落, 在线虫的口腔或体壁休止成囊体后通过产生芽管侵入线虫体内, 在线虫体内形成虫菌体, 继而发育成游动孢子囊。而 *Drechmeria*、*Hirsutella*、*Verticillium* 和 *Harposporium* 线虫内寄生真菌中的一些种通过产生粘性孢子附着于线虫上, 并产生芽管进行侵染。*Harposporium* 的另一些种产生能够被寄主线虫吞食的孢子, 吞食以后附着于寄主的肠壁或口腔上, 然后进一步进行侵染<sup>[1-2]</sup>。*H. minnesotensis* 和 *D. coniospora* 是线虫内寄生真菌的代表。*D. coniospora* 可以产生大量的粘性孢子感染线虫, 每个成熟的分生孢子可以在一端形成粘性芽以粘附到线虫角质层或头部和外阴区域的感知结构上

(图 1E)。粘附后, 在表皮层内形成感染囊泡, 然后在感染的线虫内产生营养菌丝。菌丝进一步生长和消化线虫, 通常在 3 d 内形成新的分生孢子并从线虫体内生长出来<sup>[28]</sup>。*H. minnesotensis* 也是通过产生粘附孢子, 穿透角质层并侵入孢囊线虫幼体; 菌丝消耗线虫的营养生长, 最终从虫体内穿出生长(图 1F)<sup>[29-30]</sup>。

线虫卵寄生真菌的典型物种包括 *P. chlamydosporia*、*P. lilacinum*、*Clonostachys rosea* 和 *Lecanicillium psalliotae*。这些种都属于子囊菌中的 Clavicipineaceous 真菌, 它们与昆虫病原真菌如 *Metarhizium* spp. 具有较近的亲缘关系。*P. lilacinum* 主要寄生于根结线虫的卵和卵囊(图 1G), 产生特殊的附着胞结构并通过分泌蛋白酶和几丁质酶穿透线虫的卵壳, 并在卵内生长, 直到卵完全被菌丝体所取代。同样, *P. chlamydosporia* 可寄生于根结线虫(*Meloidogyne* spp.)和胞囊线虫(*Heterodera* spp.)的雌虫、卵囊、胞囊和虫卵内(图 1H)<sup>[31]</sup>, 依靠一种尚不清楚的机制识别线虫卵和雌虫, 然后在机械穿透和水解酶系共同作用下完成对虫卵和雌虫的寄生。

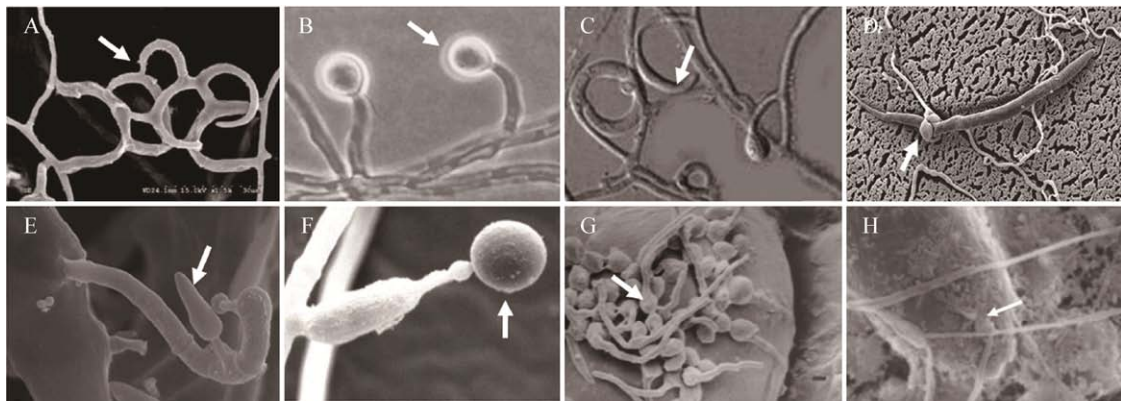


图 1 食线虫真菌的捕器和侵染性孢子

### Figure 1 The traps and infectious spores of nematophagous fungi

注: A: *A. oligospora* 形成的三维菌网<sup>[5]</sup>; B: *M. haptotylum* 的捕器, 在菌丝顶端分支处长成球形的粘球<sup>[15]</sup>; C: 非收缩环<sup>[1]</sup>; D: 线虫被 *D. stenobrocha* 收缩环捕捉<sup>[7]</sup>; E: *D. coniospora* 粘性孢子在宿主外表面的侵染钉形成泪滴状的分生孢子<sup>[16]</sup>; F: *H. minnesotensis* 的分生孢子<sup>[10]</sup>; G: *P. lilacinus* 的分生孢子在根结线虫(*Meloidogyne javanica*)卵的表面萌发<sup>[17]</sup>; H: *P. chlamydosporia* 在线虫(*Trichuris trichiura*)卵上形成附着胞<sup>[18]</sup>。

Note: A: The three dimensional networks produced by *A. oligospora*<sup>[5]</sup>; B: The adhesive knobs produced by *M. haptotylum*, it is a spherical cell formed on the apex of a hyphal branch<sup>[15]</sup>; C: Stalked knobs and nonconstricting rings<sup>[1]</sup>; D: The nematode was captured by the *D. stenobrocha* contraction ring<sup>[7]</sup>; E: Teardrop-shaped conidia form on individual pegs of the conidiophores on the external surface of the host<sup>[16]</sup>; F: Conidium of *H. minnesotensis*<sup>[10]</sup>; G: Germinated *Paecilomyces lilacinus* spores on the surface of a *Meloidogyne javanica* egg<sup>[17]</sup>; H: Formation of appressoria of *P. chlamydosporia* on *T. trichiura* eggs<sup>[18]</sup>.

## 2 食线虫真菌基因组测序和比较

随着测序技术的发展,食线虫真菌的研究也逐渐进入了基因组时代,目前已经有7种食线虫真菌的基因组被报道。2011年,本课题组测定了产生三维菌网的寡孢节丛孢(*A. oligospora*)的基因组<sup>[5]</sup>。随后,另外2种捕食线虫真菌坚粘孢单顶孢(*M. haptotylum*)和*D. stenobrocha*的基因组也被测序<sup>[6-7]</sup>。寡孢节丛孢的基因组大小为40.02 Mb, G+C%含量为45.2%,编码蛋白基因数目为11 479(表1)。2013年,瑞典大学Meerupati等测定了*M. haptotylum*的基因组<sup>[6]</sup>,该真菌的基因组大小为40.4 Mb, G+C%含量为45.24%,编码蛋白基因数目为10 959(表1)。由以上的基因组数据可以看到,两株产生粘性捕器的真菌的基因组非常相似。进一步比较发现,它们的基因组由与其它真菌共有62%的核心基因、2个真菌共有的约20%的基因及它们特有的约16%的基因组成。转录组分析表明,在感染线虫的早期阶段*M. haptotylum*和*A. oligospora*都有高度扩增的基因家族(Gene family)表现出差异表达,包括编码丝氨酸蛋白酶、酪氨酸酶及含有碳水化合物结合结构域WSC(Water-soluble carbohydrate)和粘蛋白结构域的胞外蛋白的基因<sup>[32]</sup>。此外,*M. haptotylum*的小分泌蛋白(Small secreted proteins, SSPs)在侵染线虫的初期出现显著的上调表达,并且受重复诱导点突变(Repeat-induced point mutations, RIP)的影响。SSPs的高表达和快速分化表明捕食线虫真菌和植物及昆虫病原菌的感染机制有着显著的相似性<sup>[6]</sup>。最近,中国科学院微生物研究所的刘杏忠研究员课题组测定了产生收缩环的真菌*D. stenobrocha*基因组序列,与*A. oligospora*和*M. haptotylum*相比,其基因组变小(29.02 Mb), G+C%含量变高(52.5%),编码蛋白基因数目显著减少(7 781个)(表1)。进一步分析发现,*D. stenobrocha*较小的基因组与其具有较少的转座子和重复序列有关。同时,*D. stenobrocha*在多个基因家族发生了明显的收缩,包括在真菌与

线虫识别中起重要作用的凝集素(Lectin)基因,说明收缩环的捕食对线虫的识别不是很严格。比较基因组分析结果支持捕食线虫真菌由高碳低氮环境中的腐生真菌进化而来的假说<sup>[7,33]</sup>。

*H. minnesotensis*是第一个被测序的线虫内寄生真菌,其基因组大小为51.4 Mb, G+C%含量为52.1%,编码蛋白基因数目为12 702(表1)<sup>[6,26]</sup>。与捕食线虫真菌不同,它的基因组中编码用于粘附的凝集素和用于纤维素降解的糖苷水解酶(GHs)基因数目较少,而编码蛋白质降解、信号转导和次生代谢产物的基因数目更多(表1)<sup>[10]</sup>。最近,另一株内寄生真菌*D. coniospora*的基因组被测序,其基因组大小为32.5 Mb, G+C%含量为55.2%,编码蛋白基因数目为8 733(表1)。分析发现,*D. coniospora*适应其几乎完全专性的内寄生生活方式,导致其参与腐生营养模式的许多直系同源基因家族的简化,同时保留大多数已知的真菌病原-宿主相互作用蛋白(Pathogen-host interaction, PHI)、应激反应通路和假定的SSPs的直向同源蛋白<sup>[11]</sup>。粘附和穿透宿主角质层的需要使*D. coniospora*选择性保留了表面疏水蛋白和水解酶<sup>[29]</sup>。并且*D. coniospora*基因组含有相对较高含量的重复区,包括着丝粒、端粒、rDNA岛和大量物种特异性重复区<sup>[11]</sup>。

2014年,线虫卵寄生真菌*P. chlamydosporia*的基因组也被报道,该真菌的基因组大小为42.4 Mb, G+C%含量为49.9%,编码蛋白基因数目为11 079(表1)。该真菌的基因组高度富集编码水解酶的基因,包括蛋白酶、糖苷水解酶和碳水化合物酯酶等<sup>[9,34]</sup>。最近,*P. lilacinum* 36-1的基因组被报道,其基因组大小为37.61 Mb, G+C%含量为58.57%,编码蛋白基因数目为13 150(表1);比较基因组和转录组分析发现该真菌富含与致病性相关的基因,特别是参与识别、粘附线虫卵、下游信号转导通路及水解酶基因<sup>[8]</sup>。

表 1 食线虫真菌和部分病原真菌基因组的特征

Table 1 General characteristics of genomes of nematophagous and partial pathogenic fungi

真菌 Fungi	基因组大小 Assembled size (Mb)	蛋白编码基因 Protein- coding genes	覆盖率 Coverag e (folds)	Scaffolds 数目 Number of scaffolds	Scaffold 的 N50 Scaffold N50 (kb)	G+C% 含量 G+C% content (%)	基因密度 Gene density (genes per Mb)	外显子/ 基因 Exons/ gene	tRNA 基因 tRNA genes	参考文献 References
PC	42.40	11 079	136.0	956	225.00	49.90	294.0	—	45.0	[9,34]
AO	40.02	11 479	37.0	215	2 040.00	45.20	286.0	3.80	154.0	[5]
MH	40.40	10 959	28.0	1 279	190.20	45.24	271.0	3.30	149.0	[6]
DS	29.02	7 781	80.0	142	434.40	52.50	268.3	3.50	82.0	[7]
PL	37.61	13 150	75.0	240	1 328.00	58.57	346.0	—	103.0	[8]
HM	51.40	12 702	128.0	967	382.40	52.10	247.1	2.50	145.0	[10]
DC	32.50	8 281	100.0	75	3 860.00	55.20	—	3.80	125.0	[11]
MO	40.98	12 936	20.0	1 823	12.30	51.59	335.2	—	40.5	[35]
FG	36.35	11 624	85.0	31	5.35	48.36	322.5	3.22	—	[36]
MA	39.00	10 891	100.0	176	3.22	51.49	271.1	2.80	141.0	[37]
BB	33.70	10 364	76.6	242	—	51.50	308.0	2.70	113.0	[38]

注: 真菌菌种名缩写: AO: *A. oligospora*; DS: *D. stenobrocha*; MH: *M. haptotylum*; HM: *H. minnesotensis*; PC: *P. chlamydosporia*; PL: *P. lilacinus*; DC: *D. coniospora*; BB: *Beauveria bassiana*; MA: *Metarhizium anisopliae*; MO: *Magnaporthe oryzae*; FG: *Fusarium graminearum*. —: 无相关数据。

Note: Species abbreviations: AO: *A. oligospora*; DS: *D. stenobrocha*; MH: *M. haptotylum*; HM: *H. minnesotensis*; PC: *P. chlamydosporia*; PL: *P. lilacinus*; DC: *D. coniospora*; BB: *B. bassiana*; MA: *M. anisopliae*; MO: *M. oryzae*; FG: *F. graminearum*. —: Without reported data.

### 3 食线虫真菌重要毒力相关基因家族的比较

食线虫真菌侵染线虫过程中产生多种毒力因子, 其中胞外水解酶主要包括枯草杆菌素丝氨酸蛋白酶(Subtilisin)和几丁质酶(Chitinase), 它们参与线虫的穿透和定殖<sup>[39-41]</sup>。在寡孢节丛孢基因组中鉴定出了 24 个丝氨酸蛋白酶, 它们分别属于不同的亚家族, 其中 20 个属于蛋白酶 K 家族, 包括能够固定线虫和降解体壁蛋白的蛋白酶 PII (表 2)<sup>[5,42]</sup>。相对于捕食线虫真菌, 线虫内寄生和卵寄生真菌中丝氨酸蛋白酶基因相对较多, 如 *H. minnesotensis* 中丝氨酸蛋白酶基因和寡孢节丛孢一样多, 而在 *D. coniospora* 基因组中丝氨酸蛋白酶基因有 26 个, 在 *P. lilacinum* 36-1 基因组中有 30 个, *P. chlamydosporia* 基因组中丝氨酸蛋白酶基因多达 32 个(表 2)。由于线虫内寄生和卵寄生真菌不产生捕器, 因此其可能主要依赖于具有各种不同功能的丝氨酸蛋白酶促进真菌对线虫表皮的穿透和消化, 这也反映了捕食线虫真菌和寄生性真菌在侵染线虫

致病机制的差异<sup>[39]</sup>。几丁质酶是真菌侵染线虫卵的重要毒力因子, 在捕食线虫真菌和寄生性真菌基因组中的分布有明显的区别, 捕食线虫真菌基因组中平均含有 11 个几丁质酶, 其中 *A. oligospora* 基因组中含有 16 个几丁质酶, 其中 12 个属于 GH18 家族 V 亚型, 4 个属于 GH18 家族 III 亚型<sup>[41]</sup>, 而线虫内寄生和卵寄生真菌基因组中平均含有 22 个几丁质酶, 如 *H. minnesotensis* 基因组中含有 23 个几丁质酶, *P. lilacinum* 36-1 基因组中几丁质酶数目多达 32 个, 而 *D. coniospora* 含有 13 个几丁质酶基因(表 2)。同时, 与产生粘性捕器的捕食线虫真菌(如 *A. oligospora* 和 *M. haptotylum*)相比, 线虫内寄生和卵寄生真菌具有较少的凝集素编码基因, 这可能与它们侵染线虫的机制不同有关, 如 *H. minnesotensis* 一旦孢子粘附到宿主角质层, 将从分生孢子梗脱落, 与宿主一起移动, 并最终感染线虫<sup>[10]</sup>。因此, 线虫内寄生真菌可能不需要产生过多凝集素用于粘附。而 *A. oligospora* 和 *M. haptotylum* 需要通过凝集素的粘附作用防止线虫逃脱。另外产生收缩环捕

表2 参与食线虫真菌与其它真菌致病性的部分蛋白家族的扩张  
 Table 2 Expansion of partial protein families involved in fungal pathogenesis in nematophagous fungi and other fungi

真菌 Fungi	氨基酸蛋白 Serine proteases	几丁质酶 Chitinases	含 CFEM 结构域的蛋白 CFEM-domain proteins	含 GLEYA 结构域的蛋白 GLEYA-domain proteins	脂肪酶 Lipases	角质酶 Cutinases	果胶裂解酶 Pectin lyases	凝集素 Lectin	聚酮合成酶* PKS*	非核糖体多肽合成酶* NRPS*	细胞色素 P450* Cytochrome P450*	糖苷水解酶 Glycoside hydrolases	参考文献 References
AO	24	16	17	6	51	3	15	17	5	7	34	226	[5,42]
MH	32	9	26	28	79	10	25	30	2	2	31	251	[6]
DS	17	8	12	6	14	2	3	10	4	2	20	147	[7]
PL	30	30	32	0	—	2	1	—	12	7	93	256	[8]
PC	38	22	13	1	18	5	1	—	15	12	110	305	[9,34]
HM	24	23	1	15	60	2	2	5	29	23	135	155	[10]
DC	26	13	2	9	23	3	—	3	8	17	35	225	[11]
MO	39	15	20	1	47	13	13	7	12	5	137	278	[35]
FG	35	18	19	3	57	11	21	17	15	20	115	273	[36]
MA	68	27	17	6	47	1	7	10	24	14	123	156	[37]
BB	49	22	3	0	34	5	5	6	12	17	83	180	[38]

注：\*：与次生代谢产物合成相关的蛋白；真菌种名缩写与表1相同。

Note: \*: Secondary metabolite biosynthetic proteins; Abbreviations of fungal species same as Table 1.

捉线虫的 *D. stenobrocha* 也编码较少的凝集素<sup>[7]</sup>。在 *D. stenobrocha* 基因组中仅预测存在 1 种 GalNA 结合凝集素(在 *A. oligospora* 中为 4 种)和 1 种岩藻糖结合凝集素(在 *A. oligospora* 中为 5 种), 表明 *D. stenobrocha* 具有弱的凝集素介导的识别能力。捕食线虫真菌及线虫内寄生和卵寄生真菌对线虫粘附作用的差异也反映在几种粘性蛋白的减少, 包括含有 CFEM (Common in several fungal extracellular membrane proteins) 和 GLEYA 结构域 (GLEYA domain) 的蛋白在线虫内寄生真菌中其编码基因明显减少(表 2)<sup>[7]</sup>, 其中 GLEYA 是在真菌粘附素中发现的一种碳水化合物结合结构域<sup>[32,43]</sup>。

真菌能够产生丰富的次生代谢产物, 部分次生代谢产物能够麻痹和毒杀线虫, 而有些代谢产物能够调控菌丝的发育和捕器的形成<sup>[44-45]</sup>。基因组学的发展为次生代谢产物的研究提供了一个强大的工具, 在真菌中, 参与次生代谢产物合成的酶主要是聚酮化合物合酶(Polyketide synthases, PKS)和非核糖体肽合成酶(Non-ribosomal peptide synthetases, NRPS)。捕食线虫真菌基因组中含有 4-12 个 PKS 和 NRPS, 而在线虫内寄生和卵寄生真菌基因组中 PKS 和 NRPS 的数目显著扩增(25-52 个)。如 *A. oligospora* 基因组中含有 5 个 PKS 和 7 个 NRPS, *H. minnesotensis* 基因组含有 29 个 PKS 和 23 个 NRPS, *P. chlamyosporia* 基因组中含有 15 个 PKS 和 12 个 NRPS (表 2), 说明内寄生和卵寄生真菌能够产生更多的次生代谢产物。1995 年, Anderson 等从 *A. oligospora* 中鉴定了寡孢素(Oligosporon)类型的代谢产物, 并报道了它们的杀线虫活性<sup>[46]</sup>。最近, 本实验室的牛雪梅教授等从 *A. oligospora* 中又分离得到了 3 个寡孢素类型的化合物, 命名为 Arthrobotrisins A-C<sup>[47]</sup>。进一步研究发现, 以上 3 种化合物参与 *A. oligospora* 的形态学转变, 并且都抑制 *A. oligospora* 产生分生孢子。Arthrobotrisins A 可促进真菌菌网的形成, 而 Arthrobotrisins C 则抑制真菌菌网的形成<sup>[44]</sup>。最近, Xu 等(2015)敲除了

*A. oligospora* 中一个 PKS 基因(AOL\_s00215g283), 发现突变菌株产生 Arthrobotrisins C 减少, 但突变株的捕器数量和杀线虫活性分别比野生菌株增加了 10 倍和 2 倍<sup>[48]</sup>。转录组分析表明, 编码次生代谢产物合成的酶(PKS 和 NRPS)的基因在 *H. minnesotensis* 基因组中显著扩增, 并在 *H. minnesotensis* 的次生代谢物中也发现一些具有杀线虫活性的化合物<sup>[10,49]</sup>。在昆虫病原真菌中也报道了次生代谢产物合成基因负责某些昆虫毒素如绿僵菌毒素<sup>[50]</sup>、白僵菌素<sup>[51]</sup>和巴西酰胺<sup>[52]</sup>的合成。因此, 线虫内寄生真菌高表达次级代谢相关基因可能合成有助于其抵抗宿主防御、定殖于线虫体内并抑制线虫体内微生物竞争的小分子有毒物质。

#### 4 捕器形成分子机制的研究进展

捕器是捕食线虫真菌捕捉和侵染线虫的重要武器, 对其形成机制的研究引起了人们的广泛关注。2001 年, Chen 等发现异三聚体 G 蛋白(Heterotrimeric G-protein)和钙离子-钙调蛋白(Ca<sup>2+</sup>-calmodulin)在收缩环捕器细胞的碰触反应中作为必要的胞内信使发挥作用<sup>[53]</sup>。最近, *D. stenobrocha* 转录组分析表明捕器形成过程与蛋白激酶 C (PKC)信号通路及 Zn(2)-C6 转录因子调节有关<sup>[7]</sup>。此外, 对 *M. haptotylum* 的研究发现, 在真菌形成粘性球期间, 一些过氧化物酶体蛋白、乙醛酸循环的关键酶基因以及糖原磷酸化酶基因的表达水平显著上调<sup>[28]</sup>。

2011 年, 本课题组通过对寡孢节丛孢的基因组和蛋白组的分析发现, 捕器形成的过程中有多种生物学途径参与调控, 如信号转导通路、能量代谢、细胞壁和粘附蛋白的生物合成、细胞分裂、甘油积累和过氧化物酶体生物合成等<sup>[54]</sup>。我们对部分参与寡孢节丛孢捕器形成的部分关键基因的功能进行了鉴定。苹果酸合成酶是乙醛酸循环的关键酶, 敲除寡孢节丛孢基因组中的苹果酸合成酶基因导致菌株捕器形成延迟, 只能形成一个环和两个环的捕器。基因敲除突变株的捕食线虫能力也出现了明显的下降<sup>[55]</sup>。AoMad1 与昆虫病原真菌金龟子绿僵菌

(*Metarhizium anisopliae*)的黏附蛋白 Mad1 同源, 敲除 *AoMad1* 基因后, 菌株三维菌网上的粘性物质减少了。同时,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  等真菌优先利用的氮源不能诱导  $\Delta\text{AoMad1}$  菌株产生捕器, 而  $\text{NaNO}_3$ 、尿素及酵母提取物等非优先氮源则能诱导  $\Delta\text{AoMad1}$  菌株产生更多的捕器<sup>[56]</sup>。敲除参与硝酸盐代谢的 4 个基因发现, 硝酸盐代谢途径也参与寡孢节丛孢捕器产生的基因调控<sup>[57]</sup>。此外, 本课题组还发现, 土壤细菌(如 *Stenotrophomonas maltophilia*)能产生尿素, 诱导寡孢节丛孢等捕食线虫真菌产生捕器。进一步研究发现, 尿素通过寡孢节丛孢的运转蛋白 utp79 和 utp215 进入真菌细胞, 并被真菌中的脲酶进一步分解为二氧化碳和氨气, 其中氨气发挥了信号分子的作用<sup>[58]</sup>。最近, 本课题组对寡孢节丛孢等捕食线虫真菌捕器形成的信号调控机制做了总结, 发现包括线虫等多种诱导剂都能诱导真菌产生捕器, 这些诱导剂可能通过不同的方式调控真菌捕器的形成。其中 G 蛋白信号通路可能在捕器形成的过程中发挥了重要的作用<sup>[59]</sup>。综上所述, 捕食线虫真菌的捕器形成过程非常复杂, 有多种生物学途径的参与, 而且不同类型的捕器形成机制可能是不同的。

## 5 捕食线虫真菌和线虫内寄生真菌的进化分析

通过对子囊菌属捕食线虫真菌的保守基因进行系统发育分析, 发现捕食线虫真菌的进化与自然界的大规模灭绝事件存在一定的因果关系。大规模灭绝事件导致森林中植物残留物增加, 从而产生极高的碳氮比, 在这种环境选择压力下, 一些腐生真菌由于摄取氮源的需要, 可能进化出捕捉小动物(如线虫)来获得氮源的能力<sup>[33]</sup>。通过基因组比较发现, 在捕食线虫真菌基因组中富含与纤维素降解有关的基因, 而降解植物细胞的酶的基因非常少, 表明捕食线虫真菌与腐生生物的相似度比植物病原真菌更高<sup>[7]</sup>。例如, 在 *D. stenobrocha* 基因组中, 有 147 个糖基水解酶(Glycoside hydrolase, GH)基因,

在 *A. oligospora* 中有 226 个 GH 基因, 类似于昆虫病原菌的平均数量(181 个), 但比植物病原真菌(280 个)和腐生真菌(232 个)中少<sup>[7]</sup>。而且在 *D. stenobrocha* 和 *A. oligospora* 基因组中含有丰富的碳水化合物活性酶(Carbohydrate-active enzymes, CAZy)的碳水化合物结合组件(CBM1)相关基因, 然而在植物病原真菌中存在的 CBM1 包含多糖裂解酶在捕食线虫真菌和腐生真菌中却不存在(表 2)<sup>[60]</sup>。因此捕食线虫真菌基因组中碳水化合物降解酶系基因与腐生真菌相似, 并且 *D. stenobrocha* 转录组分析表明在捕器形成过程中腐生相关基因显著下调和侵染线虫相关基因显著上调, 说明捕食线虫真菌起源于腐生真菌, 具有腐生和捕食双重生存策略。

Yang 等利用 5 个保守蛋白的编码基因构建了 16 种产生不同捕器类型的食肉性真菌的系统发育树<sup>[33]</sup>。依据化石的分子时钟校准结果, 真菌的食肉性大约是在 419 MYA (Million years ago)由腐生真菌分化而来, 大约在线虫起源的 500–600 MYA 后。在二叠纪-三叠纪(251.4 MYA)大灭绝事件发生后不久, 产生主动型捕器收缩环的真菌和被动型捕器(如粘性菌网、粘性球等)的真菌在大约 246 MYA 进化而来。多数具有粘性捕器的真菌是在大约 198–208 MYA 间进化而来, 这个阶段正好处于三叠纪-侏罗纪大灭绝事件(201.4 MYA)期间<sup>[33]</sup>。然而 Meerupati 等对 *A. oligospora* 和 *M. haptotylum* 的分化时间提出了疑问, 他们通过 16 种真菌 602 个同源基因之间的比较, 推算出 *A. oligospora* 和 *M. haptotylum* 的分化时间大约是在 14–18 MYA<sup>[6]</sup>。

*H. minnesotensis* 等线虫内寄生和卵寄生真菌的基因组与昆虫病原真菌的基因组相似, 基于基因组数据构建的系统发育树表明, 线虫内寄生、卵寄生真菌与昆虫病原真菌聚类在一个进化分支, 其中卵寄生真菌 *P. chlamydosporia* 与绿僵菌(如 *M. anisopliae* 和 *M. acridum*)聚类在一个亚支, 而 *H. minnesotensis* 和 *D. coniospora* 与冬虫夏草菌(*Ophiocordyceps sinensis*)具有更近的亲缘关系<sup>[11,29]</sup>。



此外, 基于基因组进化分析, *H. minnesotensis* 与 *O. sinensis* 的分歧时间约为 23.9–33.9 MYA 前<sup>[10]</sup>。以上的研究表明, 线虫内寄生和卵寄生真菌的形成与大灭绝事件是独立的, 它们更有可能起源于昆虫病原真菌。

## 6 展望

随着高通量测序技术的发展, 目前已经有 3 株捕食线虫真菌与 4 株线虫内寄生和卵寄生真菌的全基因组被测序。结合基因组、转录组和蛋白组学研究发现, 在食线虫真菌侵染线虫的过程中有大量的基因存在差异表达的现象, 这些研究拓宽了人们对它们的起源和进化、重要代谢产物的合成、以及致病机制等方面的理解。然而, 要全面认识捕食线虫真菌从腐生到寄生生活模式的转变机制, 仍然需要测定更多产生不同类型捕器的捕食线虫真菌的基因组, 在基因组水平上进行深入的研究。同时, 基因组、蛋白质组和转录组的研究表明, 捕食线虫真菌形成捕器是一个高度复杂的生物学过程, 有多种不同的生物学途径参与捕器形成的调控, 如信号转导、能量代谢和细胞分裂等。因此, 在今后的研究中, 需要进一步通过基因敲除和过表达等多种分子生物学工具, 来阐明捕器形成的分子调控机制。此外, 线虫内寄生真菌侵染线虫的分子机制研究目前仍局限于分离并鉴定参与侵染的基因, 然而对真菌致病基因的差异表达规律及调控机制还缺乏深入了解, 更多的致病基因仍有待发现。总之, 基因组、蛋白组和转录组等相关组学的应用极大地拓宽了人们对食线虫真菌分子背景的了解, 为认识和研究这一特殊类型的真菌从腐生到寄生生活模式的转换、捕器形成和致病的分子机制奠定了良好的基础, 同时也为高效线虫生防制剂的研发奠定了基础。

## REFERENCES

- [1] Zhang Y, Li GH, Zhang KQ. A review on the research of nematophagous fungal species[J]. *Mycosystema*, 2011, 30(6): 836-845 (in Chinese)  
张颖, 李国红, 张克勤. 食线虫真菌资源研究概况[J]. 菌物学报, 2011, 30(6): 836-845
- [2] Zhang KQ, Liu XZ, Li TF. *Biology of Nematophagous Fungi*[M]. Beijing: China Science & Technology Press, 2001 (in Chinese)  
张克勤, 刘杏忠, 李天飞. 食线虫菌物生物学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2001
- [3] Kiewnick S, Neumann S, Sikora RA, et al. Effect of *Meloidogyne incognita* inoculum density and application rate of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 on biocontrol efficacy and colonization of egg masses analyzed by real-time quantitative PCR[J]. *Phytopathology*, 2011, 101(1): 105-112
- [4] Manzanilla-López RH, Esteves I, Finetti-Sialer MM, et al. *Pochonia chlamydosporia*: advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary Endo-parasitic nematodes[J]. *Journal of Nematology*, 2013, 45(1): 1-7
- [5] Yang JK, Wang L, Ji XL, et al. Genomic and proteomic analyses of the fungus *Arthrobotrys oligospora* provide insights into nematode-trap formation[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(9): e1002179
- [6] Meerupati T, Andersson KM, Friman E, et al. Genomic mechanisms accounting for the adaptation to parasitism in nematode-trapping fungi[J]. *PLoS Genetics*, 2013, 9(11): e1003909
- [7] Liu KK, Zhang WW, Lai YL, et al. *Drechlerella stenobrocha* genome illustrates the mechanism of constricting rings and the origin of nematode predation in fungi[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 114
- [8] Xie JL, Li SJ, Mo CM, et al. Genome and transcriptome sequences reveal the specific parasitism of the nematophagous *Purpureocillium lilacinum* 36-1[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1084
- [9] Larriba E, Jaime MDLA, Carbonell-Caballero J, et al. Sequencing and functional analysis of the genome of a nematode egg-parasitic fungus, *Pochonia chlamydosporia*[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2014, 65: 69-80
- [10] Lai YL, Liu KK, Zhang XY, et al. Comparative genomics and transcriptomics analyses reveal divergent lifestyle features of nematode endoparasitic fungus *Hirsutella minnesotensis*[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2014, 6(11): 3077-3093
- [11] Lebrigand K, He LD, Thakur N, et al. Comparative genomic analysis of *Drechmeria coniospora* reveals core and specific genetic requirements for fungal endoparasitism of nematodes[J]. *PLoS Genetics*, 2016, 12(5): e1006017
- [12] Grønvold J, Wolstrup J, Nansen P, et al. Biotic and abiotic factors influencing growth rate and production of traps by the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* when induced by *Cooperia oncophora* larvae[J]. *Journal of Helminthology*, 1999, 73(2): 129-136
- [13] Sun MH, Liu XZ. Carbon requirements of some nematophagous, entomopathogenic and mycoparasitic hyphomycetes as fungal biocontrol agents[J]. *Mycopathologia*, 2006, 161(5): 295-305
- [14] Nordbring-Hertz B, Jansson HB, Tunlid A. *Nematophagous Fungi*[M]. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2011
- [15] Ahrén D, Tholander M, Fekete C, et al. Comparison of gene expression in trap cells and vegetative hyphae of the

- nematophagous fungus *Monacrosporium haptotylum*[J]. *Microbiology*, 2005, 151(3): 789-803
- [16] Zhang LW, Zhou ZF, Guo QN, et al. Insights into adaptations to a near-obligate nematode endoparasitic lifestyle from the finished genome of *Drechmeria coniospora*[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23122
- [17] Holland RJ, Williams KL, Nevalainen KMH. *Paecilomyces lilacinus* strain Bioact251 is not a plant endophyte[J]. *Australasian Plant Pathology*, 2003, 32(4): 473-478
- [18] Silva AR, Araújo JV, Braga FR, et al. Comparative analysis of destruction of the infective forms of *Trichuris trichiura* and *Haemonchus contortus* by nematophagous fungi *Pochonia chlamydosporia*; *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* by scanning electron microscopy[J]. *Veterinary Microbiology*, 2011, 147(1/2): 214-219
- [19] Veenhuis M, Wijk C, Wyss U, et al. Significance of electron dense microbodies in trap cells of the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1989, 56(3): 251-261
- [20] Yang Y, Yang EC, An ZQ, et al. Evolution of nematode-trapping cells of predatory fungi of the Orbiliaceae based on evidence from rRNA-encoding DNA and multiprotein sequences[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(20): 8379-8384
- [21] Liu XZ, Xiang MC, Che YS. The living strategy of nematophagous fungi[J]. *Mycoscience*, 2009, 50(1): 20-25
- [22] Drechsler C. Some hyphomycetes that prey on free-living terricolous nematodes[J]. *Mycologia*, 1937, 29(4): 447-552
- [23] Liu KK, Tian JQ, Xiang MC, et al. How carnivorous fungi use three-celled constricting rings to trap nematodes[J]. *Protein & Cell*, 2012, 3(5): 325-328
- [24] Li Y, Hyde KD, Jeewon R, et al. Phylogenetics and evolution of nematode-trapping fungi (Orbiliaceae) estimated from nuclear and protein coding genes[J]. *Mycologia*, 2005, 97(5): 1034-1046
- [25] Andersson KM, Kumar D, Bentzer J, et al. Interspecific and host-related gene expression patterns in nematode-trapping fungi[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 968
- [26] Dijksterhuis J, Veenhuis M, Harder W, et al. Nematophagous fungi: physiological aspects and structure-function relationships[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 1994, 36: 111-143
- [27] Higgins ML, Pramer D. Fungal morphogenesis: ring formation and closure by *Arthrobotrys dactyloides*[J]. *Science*, 1967, 155(3760): 345-346
- [28] Moosavi MR, Zare R. Fungi as biological control agents of plant-parasitic nematodes[C]//Mérillon J, Ramawat KG, eds. *Plant Defence: Biological Control*. Netherlands: Springer, 2012, 12: 67-107
- [29] Sturhan D, Schneider R. *Hirsutella heteroderae*, a new nematode-parasitic fungus[J]. *Phytopathologische Zeitschrift*, 1980, 99(2): 105-115
- [30] Liu XZ, Chen SY. Parasitism of *Heterodera glycines* by *Hirsutella* spp. in Minnesota soybean fields[J]. *Biological Control*, 2000, 19(2): 161-166
- [31] Shi Y. Studies on the biology and formulation of *Pochonia chlamydosporia* 152 Strain[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2011 (in Chinese)
- 石妍. 厚垣孢普可尼亚菌 PC152 菌株生物学及制剂工艺研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2011
- [32] Andersson KM, Meerupati T, Levander F, et al. Proteome of the nematode-trapping cells of the fungus *Monacrosporium haptotylum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(16): 4993-5004
- [33] Yang EC, Xu LL, Yang Y, et al. Origin and evolution of carnivorism in the Ascomycota (fungi)[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(27): 10960-10965
- [34] Aranda-Martinez A, Lenfant N, Escudero N, et al. CAZyme content of *Pochonia chlamydosporia* reflects that chitin and chitosan modification are involved in nematode parasitism[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(11): 4200-4215
- [35] Xue MF, Yang J, Li ZG, et al. Comparative analysis of the genomes of two field isolates of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*[J]. *PLoS Genetics*, 2012, 8(8): e1002869
- [36] Cuomo CA, Güldener U, Xu JR, et al. The *Fusarium graminearum* genome reveals a link between localized polymorphism and pathogen specialization[J]. *Science*, 2007, 317(5843): 1400-1402
- [37] Gao Q, Jin K, Ying SH, et al. Genome sequencing and comparative transcriptomics of the model entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. acridum*[J]. *PLoS Genetics*, 2011, 7(1): e1001264
- [38] Xiao GH, Ying SH, Zheng P, et al. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*[J]. *Scientific Reports*, 2012, 2: 483
- [39] Li J, Yu L, Yang JK, et al. New insights into the evolution of subtilisin-like serine protease genes in *Peizizomycotina*[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2010, 10: 68
- [40] Tang LY, Yang L, Xing XJ, et al. Advances in pathogenicity-related serine proteases in nematophagous fungi[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(4): 911-919 (in Chinese)
- 汤丽燕, 杨乐, 邢新婧, 等. 食线虫真菌致病相关丝氨酸蛋白酶的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(4): 911-919
- [41] Yang JK, Yu Y, Li J, et al. Characterization and functional analyses of the chitinase-encoding genes in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*[J]. *Archives of Microbiology*, 2013, 195(7): 453-462
- [42] Yang JK, Liang LM, Li J, et al. Nematicidal enzymes from microorganisms and their applications[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(16): 7081-7095
- [43] Linder T, Gustafsson CM. Molecular phylogenetics of ascomycotal adhesins—a novel family of putative cell-surface adhesive proteins in fission yeasts[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2008, 45(4): 485-497
- [44] Zhang HX, Tan JL, Wei LX, et al. Morphology regulatory metabolites from *Arthrobotrys oligospora*[J]. *Journal of Natural Products*, 2012, 75(7): 1419-1423
- [45] Degenkolb T, Vilcinskas A. Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as an alternative for biological control. Part I: metabolites from nematophagous ascomycetes[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(9): 3799-3812

- [46] Anderson MG, Jarman TB, Rickards RW. Structures and absolute configurations of antibiotics of the oligosporon group from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*[J]. The Journal of Antibiotics, 1995, 48(5): 391-398
- [47] Wei LX, Zhang HX, Tan JL, et al. Arthrotrisinins A–C, oligosporons from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*[J]. Journal of Natural Products, 2011, 74(6): 1526-1530
- [48] Xu ZF, Wang BL, Sun HK, et al. High trap formation and low metabolite production by disruption of the polyketide synthase gene involved in the biosynthesis of arthrosporols from nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(41): 9076-9082
- [49] Zhang WW, Cheng XL, Liu XZ, et al. Genome studies on nematophagous and entomogenous fungi in China[J]. Journal of Fungi, 2016, 2(1): 9
- [50] Wang B, Kang QJ, Lu YZ, et al. Unveiling the biosynthetic puzzle of destruxins in *Metarhizium* species[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(4): 1287-1292
- [51] Xu YQ, Orozco R, Wijeratne EMK, et al. Biosynthesis of the cyclooligomer depsipeptide beauvericin, a virulence factor of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*[J]. Chemistry & Biology, 2008, 15(9): 898-907
- [52] Xu YQ, Orozco R, Wijeratne EMK, et al. Biosynthesis of the cyclooligomer depsipeptide bassianolide, an insecticidal virulence factor of *Beauveria bassiana*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2009, 46(5): 353-364
- [53] Chen TH, Hsu CS, Tsai PJ, et al. Heterotrimeric G-protein and signal transduction in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys dactyloides*[J]. Planta, 2001, 212(5/6): 858-863
- [54] Li J, Zou CG, Xu JP, et al. Molecular mechanisms of nematode-nematophagous microbe interactions: basis for biological control of plant-parasitic nematodes[J]. Annual Review of Phytopathology, 2015, 53: 67-95
- [55] Zhao XY, Wang YC, Zhao Y, et al. Malate synthase gene *AoMls* in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* contributes to conidiation, trap formation, and pathogenicity[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(6): 2555-2563
- [56] Liang LM, Shen RF, Mo YY, et al. A proposed adhesin *AoMad1* helps nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* recognizing host signals for life-style switching[J]. Fungal Genetics and Biology, 2015, 81: 172-181
- [57] Liang LM, Liu ZH, Liu L, et al. The nitrate assimilation pathway is involved in the trap formation of *Arthrobotrys oligospora*, a nematode-trapping fungus[J]. Fungal Genetics and Biology, 2016, 92: 33-39
- [58] Wang X, Li GH, Zou CG, et al. Bacteria can mobilize nematode-trapping fungi to kill nematodes[J]. Nature Communications, 2014, 5: 5776
- [59] Su H, Zhao Y, Zhou J, et al. Trapping devices of nematode-trapping fungi: formation, evolution, and genomic perspectives[J]. Biological Reviews, 2017, 92(1): 357-368
- [60] Klosterman SJ, Subbarao KV, Kang SC, et al. Comparative genomics yields insights into niche adaptation of plant vascular wilt pathogens[J]. PLoS Pathogens, 2011, 7(7): e1002137