

## 特约综述 Invited Review

## 镰孢菌属真菌次生代谢产物的研究进展

张晓伟<sup>1,2</sup>, 张栋<sup>1,\*</sup><sup>1</sup>中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所植物分子遗传国家重点实验室, 上海200032; <sup>2</sup>中国科学院大学, 北京100049

**摘要:** 镰孢菌属包括禾谷镰孢、串珠镰孢和尖孢镰孢等主要的植物病原真菌, 能够产生多种次生代谢产物。依据结构和合成途径, 次生代谢产物可以分为聚酮类(黄色镰刀菌素、伏马毒素和玉米赤霉烯酮等)、萜类(单端孢霉烯和类胡萝卜素等)和非核糖体多肽类(铁载体等)三种主要的类型。其中, 萜类中的单端孢霉烯和聚酮类的伏马毒素对人畜的健康威胁最大。本文对这些次生代谢产物的种类、作用、合成及其调节机制进行简单的概述。

**关键词:** 镰孢菌属真菌; 次生代谢产物; 聚酮类; 萜类; 非核糖体多肽类

Recent Advances of Secondary Metabolites in Genus *Fusarium*ZHANG Xiao-Wei<sup>1,2</sup>, ZHANG Dong<sup>1,\*</sup><sup>1</sup>National Key Laboratory of Plant Molecular Genetics, Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Chinese Academy of Science, Shanghai 200032, China; <sup>2</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** The genus *Fusarium* includes a number of important plant pathogens such as *Fusarium graminearum*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium oxysporum*, which are capable of producing many secondary metabolites. According to structure and biosynthetic pathway, the secondary metabolites can be grouped into three classes: polyketides including aurofusarin, fumonisin and zearalenone; terpenes including trichothecene and carotenoid; nonribosomal peptides including siderophore. Among these, trichothecene and fumonisin are mycotoxins that affect human, animal health. Here we review current understanding of the classification, function, biosynthesis and regulation of the secondary metabolites produced by *Fusarium* fungi.

**Key words:** *Fusarium*; secondary metabolites; polyketides; terpenes; nonribosomal peptides

镰孢菌属是一大类广泛分布在土壤和植物体内的丝状真菌, 其中包含了多种极具破坏性的植物致病真菌, 包括禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)、串珠镰孢(*F. moniliforme*)、尖孢镰孢(*F. oxysporum*)、拟枝孢镰孢(*F. sporotrichioides*)、木贼镰孢(*F. equiseti*)、燕麦镰孢(*F. avenaceum*)等(O'Donnell等2004)。镰孢菌能够产生单端孢霉烯、伏马毒素和玉米赤霉烯酮等真菌毒素(mycotoxin)和其他类型的次生代谢产物(Kristensen等2005; Desjardins和Proctor 2007)。其中, 真菌毒素不但能够影响真菌对宿主的侵染, 而且对脊椎动物具有毒害作用(Proctor等1995; Brown等2004; Alexander等2009)。

镰孢菌如禾谷镰孢、串珠镰孢和尖孢镰孢全基因组序列的清晰化(Cuomo等2007; Ma等2010), 使得对其次生代谢产物的研究也进入了基因组时代。多数次生代谢产物相关的合成及其调节基因

在染色体上串联排列, 形成基因簇, 包括编码萜类合酶、聚酮合酶或非核糖体多肽合成酶的基因, 编码转运蛋白、细胞色素P450、氧化还原酶、Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub>转录因子和氧甲基转移酶的基因(Ma等2010)。了解次生代谢产物的合成与调节机制, 有利于有效地控制毒素在宿主体内的积累, 从而减少毒素对人畜健康的损害。本文对镰孢菌属真菌次生代谢产物的种类、作用、合成及其调节机制进行概述。

## 1 次生代谢产物的种类及合成过程

镰孢菌属真菌的次生代谢产物的合成底物、合成过程、结构和生物学功能都具有多样性(Kristensen等2005) (表1)。根据结构和合成途径, 分为萜类、聚酮类和非核糖体多肽类。

收稿 2012-12-21 修定 2013-01-22

资助 国家基础研究项目(2011CB100702)和中国科学院知识创新项目(KSCX2-EW-N-06)。

\* 通讯作者(E-mail: dzhang01@sibs.ac.cn; Tel: 021-54924075)。

表1 部分镰孢菌属真菌产生的次生代谢产物的种类

Table 1 Secondary metabolites produced by *Fusarium* species (partial list)

菌株类型	次生代谢产物		
	萜类	聚酮类	非核糖体多肽类
禾谷镰孢( <i>F. graminearum</i> )	单端孢霉烯、类胡萝卜素	黄色镰刀菌素、玉米赤霉烯酮、 镰孢菌素C	铁载体
尖孢镰孢( <i>F. oxysporum</i> )	类胡萝卜素	串珠镰刀菌素	—
拟枝孢镰孢( <i>F. sporotrichioides</i> )	单端孢霉烯	玉米赤霉烯酮	恩镰孢菌素
串珠镰孢( <i>F. moniliforme</i> )	赤霉素、类胡萝卜素、 fusaproliferin	伏马毒素、镰孢菌素C、比卡菌素、 串珠镰刀菌素	—
层出镰孢( <i>F. proliferatum</i> )	fusaproliferin	伏马毒素、串珠镰刀菌素	—
黄色镰孢( <i>F. culmorum</i> )	单端孢霉烯	黄色镰孢菌素、玉米赤霉烯酮	—
燕麦镰孢( <i>F. avenaceum</i> )	—	黄色镰孢菌素、镰孢菌素C、 串珠镰刀菌素	恩镰孢菌素
木贼镰孢( <i>F. equiseti</i> )	单端孢霉烯	玉米赤霉烯酮、伊快菌素	—
半裸镰孢( <i>F. semitectum</i> )	—	伊快菌素	—
异孢镰孢( <i>F. heterosporum</i> )	—	伊快菌素	—

### 1.1 萜类(terpene)

萜类化合物由数个异戊二烯单位组成,合成前体是甲瓦龙酸途径产生的二甲基烯丙基焦磷酸和异戊烯基焦磷酸,在异戊烯基转移酶的催化下形成牻牛儿基焦磷酸(geranyl diphosphate, GPP)、法呢基焦磷酸(farnesyl diphosphate, FPP)和牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(geranylgeranyl diphosphate, GGPP)。以GPP、FPP和GGPP为底物,分别形成单萜、倍半萜和二萜类的次生代谢产物(Keller等2005)。萜类合酶是萜类合成的关键酶,其蛋白的序列同源性很低,但其三级结构十分相似,有保守的能够结合镁离子的DDXXD/E (X为任意氨基酸)结构(Keller等2005)。

**1.1.1 单端孢霉烯(trichothecene)** 单端孢霉烯是60多种倍半萜化合物的统称,主要由镰孢菌属、漆斑菌属和葡萄状穗霉属真菌产生(Bennett和Klich 2003)。根据在C-8上酮基的有无,单端孢霉烯可分为A类型和B类型,A类型有T-2毒素、HT-2毒素、蛇形毒素和新茄镰孢菌醇等,B类型有脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、乙酰化DON、雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, NIV)和镰刀菌烯酮-X等。其中, DON可通过结合60S核糖体亚基而抑制蛋白质的合成(Alexander等2009),威胁着人畜的健康。

单端孢霉烯是含有3个环的倍半萜,以FPP为底物,经过1次环化、8次加氧和4次酯化而形成(图1)。合成的基因主要位于染色体上3个区段,其中,

关键是以*Tri5*为中心的12个基因。*Tri5*编码萜类合酶,催化FPP环化形成单端孢霉烯前体(trichodienone)。*Tri5*突变后,单端孢霉烯的合成受阻,而且真菌的致病性显著下降,病斑仅存在于感染处(Cuzick等2008)。此外,还有催化C-2、C-3、C-11羟基化和C-12/C-13环加氧的细胞色素P450单加氧酶Tri4,以及分别负责C-15和C-4位加氧的Tri11和Tri13。Tri3和Tri8分别为O-15乙酰基转移酶和O-3乙酰基转移酶,协同Tri7,负责乙酰基的转移。负责C-8加氧和O-乙酰基转移的*Tri1*和*Tri16*,定位于*Tri5*不相邻的位置上。而位于第3个位置的*Tri101*和*Tri15*分别编码C-3氧乙酰基转移酶和负调节单端孢霉烯合成的转录因子。*Tri12*编码细胞膜上的转运蛋白,可能负责终产物的胞内到胞外的运输(Menke等2012)。而Tri6是一个Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub>类型的广谱调节因子,不仅能够调节单端孢霉烯合成相关基因的表达(Proctor等1995),而且能够调节前体类异戊二烯合成相关基因、看家基因和其他次生代谢相关基因(铁载体等)的表达(Seong等2009; Nasmith等2011)。

真菌产生的毒素类型是由基因簇中的基因决定的。在产生NIV的镰孢菌中,*Tri13*编码的细胞色素P450单加氧酶和*Tri7*编码的乙酰基转移酶,能够使C-4羟基化和乙酰化(Lee等2002)。而在产生DON的镰孢菌中,由于*Tri13*和*Tri7*编码区位点的插入和缺失,丧失了相应的活性(Brown等2002;

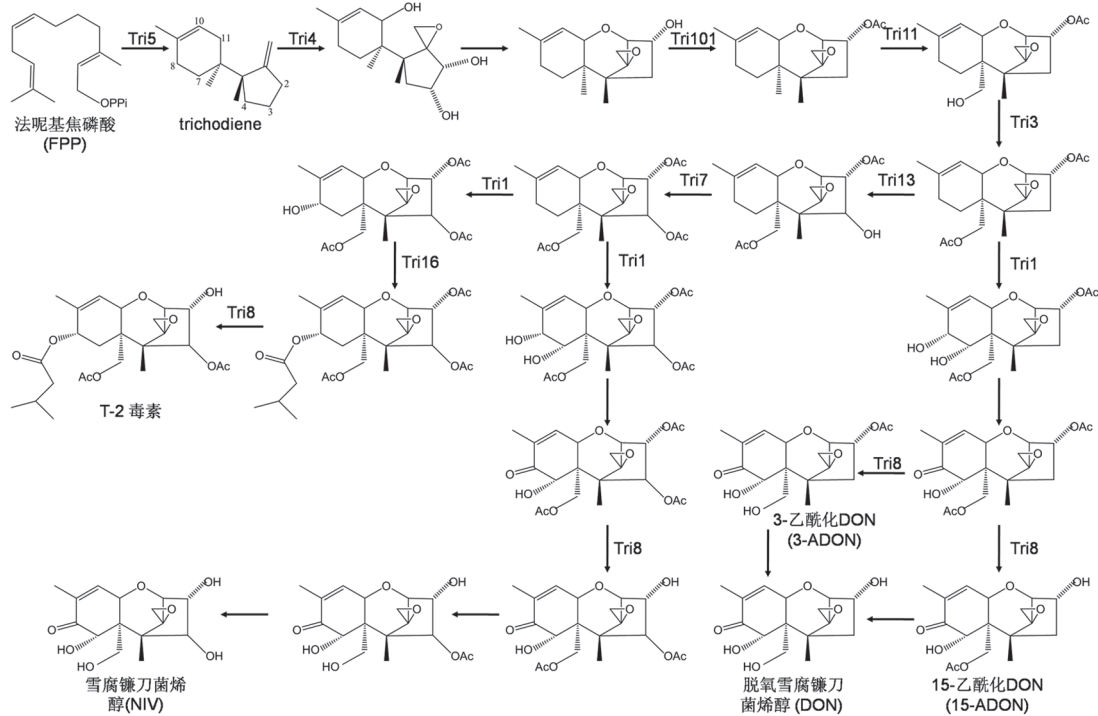


图1 单端孢霉烯的合成过程及相对应的Tri蛋白(据Alexander等2009修改)

Fig.1 Proposed trichothecene biosynthetic pathway and responsible enzymes

Lee等2002)。在拟枝孢镰孢中, Tri1能够催化C-8位置的羟基化, 但是缺少C-7位置羟基化的功能, 从而产生A类型的单端孢霉烯(Meek等2003)。而在禾谷镰孢等菌中, Tri1能够同时催化C-7和C-8位置的羟基化, 产生了B类型的单端孢霉烯DON和NIV (McCormick等2004)。此外, *Tri8*基因的编码区和上游序列的差异, 决定了3-乙酰化DON (3-ADON)或者15-乙酰化DON (15-ADON)的产生 (Alexander等2011)。

**1.1.2 赤霉素(gibberellin, GA)** GA是一类二萜类的化合物, 最先在串珠镰孢中发现。赤霉素合成基因于1998年在串珠镰孢中发现(Tudzynski等1998)。其中, *CPS*编码的柯巴基二磷酸合酶, 能催化GGPP合成贝壳杉烯。*CPS*上游和下游的4个基因(编码P450-1、P450-2、P450-4和GGPP合酶), 在赤霉素合成条件下有明显的上调表达。这些基因与编码GA4去饱和酶的*DES*和C-13羟化酶的*P450-3*基因, 组成了20 kb的GA合成基因簇(Tudzynski和Holter 1998; Tudzynski等2003)。

GA在植物中也广泛存在, 能够调节种子萌发、伸长和开花等重要的生理过程。与植物中主

要的活性形式GA1不同, 真菌体内的形式一般为GA3。在植物和真菌中, GA从GGPP到GA12醛的合成过程是相同的。此后, 在串珠镰孢中, GA12醛羟基化形成GA14醛, 然后加氧形成GA14, 再经氧化形成第一个具有生物活性的GA4, 最后经去饱和与C-13位的羟基化形成GA3 (图2)。在植物中, GA12醛加氧形成GA12, GA12经C-13羟基化形成GA53, 后C-20氧化形成GA20, 最终羟基化形成GA1。在有些植物中, GA20首先脱氢形成GA5, 再羟基化形成GA3 (图2) (Tudzynski 2005)。在植物和真菌中, 对行使相同功能的细胞色素P450单加氧酶的序列进行比对, 发现同源性很低; 而且与真菌中形成基因簇不同, 植物如拟南芥中合成GA的基因散落地分布在染色体上。这些结果说明, 植物和真菌的GA合成是分别进化而来的(Hedden等2001)。

GA的合成受高氮源如铵、谷氨酰胺、天门冬酰胺和硝酸盐等的抑制(Munoz和Agosin 1993; Tudzynski等1999)。串珠镰孢中氮利用相关基因的负调节因子*AreA*突变后, GA合成会下降90%。分子生物学的实验显示, *AreA*能够直接调节除

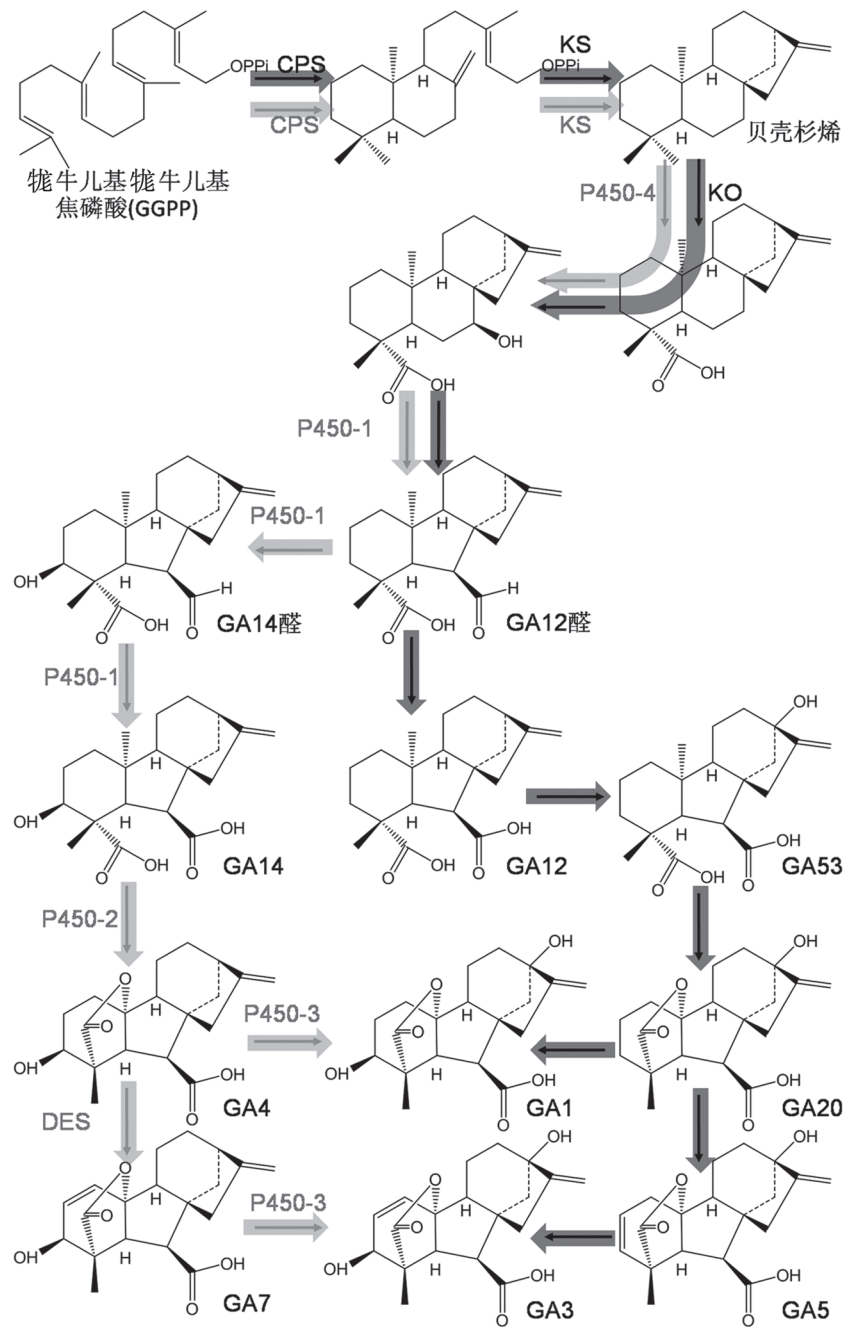


图2 GA1和GA3的合成过程(据Hedden等2001修改)

Fig.2 Biosynthetic pathways to GA1 and GA3

黑色箭头表示植物中的合成过程,灰色箭头表示在串珠镰孢中的合成过程。

*P450-3*以外的GA合成相关基因的表达(Mihlan等2003)。

通过序列比对,发现在许多真菌中都存在GA合成的基因簇,但不能产生GA,推测与其合成相关基因的编码和非编码区的突变有关(Tudzynski 2005)。

**1.1.3 类胡萝卜素(carotenoid)** 类胡萝卜素是由微生物和植物产生的天然二萜类色素,有700多种。它具有抗癌和抗氧化的功能,也能预防多种慢性病的产生(Landrum和Bone 2001)。茄科植物例如番茄中的番茄红素(lycopene),即为类胡萝卜素的一种,它不仅具有抗癌抑癌的功效,而且在预防心

血管疾病、动脉硬化、增强人体免疫系统以及延缓衰老都具有重要意义, 是一种很有发展前途的新型功能性天然色素。

镰孢菌属中能产生类胡萝卜素的主要有串珠镰孢、禾谷镰孢和尖孢镰孢(Prado等2004; Jin等2010;

Rodriguez-Ortiz等2012)。类胡萝卜素的合成是以GGPP为前体, 经过八氢番茄红素合成酶合成八氢番茄红素(phytoene), 经5次脱氢、1次末端环化形成红酵母烯(torulene), 再经过氧化, 去除末端的5个碳原子, 形成链孢霉黄素(neurosporaxanthin)(图3)。

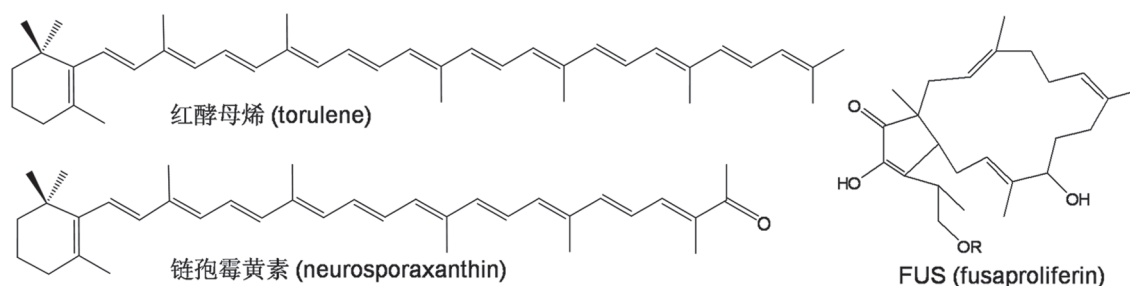


图3 类胡萝卜素和FUS的化学结构(据Jin等2010和Jestoi 2008修改)

Fig.3 Structures of carotenoid and FUS

在禾谷镰孢中, 有5个与类胡萝卜素合成相关的基因(*GzCarB*、*GzCarO*、*GzCarRA*、*GzCarT*和*GzCarX*), 它们有一致的表达模式。其中, *GzCarRA*编码八氢番茄红素和番茄红素环化酶, *GzCarB*编码八氢番茄红素脱氢酶, *GzCarT*编码红酵母素氧化酶(Jin等2010), 催化类胡萝卜素的合成。然而, 在*GzCarO* (编码opsin-like蛋白)或*GzCarX* (编码类胡萝卜素氧化酶)的突变体中, 类胡萝卜素的合成没有变化。推测在禾谷镰孢中, 这两个基因对类胡萝卜素的合成不起作用。

在粗糙脉孢霉(*Neurospora crassa*)中, 合成类胡萝卜素的基因上游有受光调控的APE元件(Carattoli等1994)。在串珠镰孢中, *CarRA*、*CarB*和*CarO*会受到光的诱导(Thewes等2005), 且具有相同的表达趋势, 但是基因的上游并没有类似的光调控元件。这说明, 在串珠镰孢中, 光对类胡萝卜素的调控可能是间接的。除此之外, 在充足的碳源或者较少氮源的情况下, 类胡萝卜素的合成也会增加(Garbayo等2003)。

**1.1.4 fusaproliferin (FUS)** FUS主要由层出镰孢(*F. proliferatum*)产生。FUS处理玉米后, 其叶绿素的含量降低。此外, FUS能使腮足虫幼虫的数量降低, 导致50%的幼虫死亡, 也能使鸡胚畸形(Jestoi 2008)。在真菌中, 有FUS和去乙酰化的FUS两种形式, 后者的毒性明显小于前者。

FUS是一种双环的倍半萜类化合物, 含有5个异戊二烯单位(图3)。C-3、C-7、C-11和C-15上的4个甲基协同CH和CH<sub>2</sub>基团形成疏水区域。而在另一边, 羟基、羧基和酯构成亲水区。这种双极性赋予了FUS洗涤剂的特性(Santini等1996), 从而也增加了FUS抽提的难度, 因其较容易与样品的基质结合。对于FUS合成及其调节的分子机制, 目前还没有深入的研究。

## 1.2 聚酮类(polyketide)

聚酮类化合物的种类最为丰富, 它以乙酰辅酶A、丙二酰辅酶A或其衍生物为底物, 经聚酮合酶(PKS)催化而成。PKS主要包含酮脂酰辅酶A合酶(KS)、酰基转移酶(AT)和酰基载体(ACP)功能结构域(图4) (Khosla等1999; Keller等2005)。除此之外, 有些还包含脱氢酶(DH)、甲基转移酶(MT)、烯酰水合酶(ER)、酮还原酶(KR)、环化酶(CYC)和硫酯酶(TE)等修饰产物的结构域(图4)。底物经由AT结构域, 与ACP结构域的硫形成硫酯键, 然后与结合在KS结构域的硫酯缩合(图4)。这个过程不断重复, 形成终产物。该过程重复的次数和产物的修饰造就了聚酮类化合物的多样性(Keller等2005)。

**1.2.1 黄色镰刀菌素(aurofusarin)** 黄色镰刀菌素是一种沉淀在细胞壁的红色色素(Malz等2005), 属于芳香族萘醌类的聚酮二聚体, 在1937年由Ashley

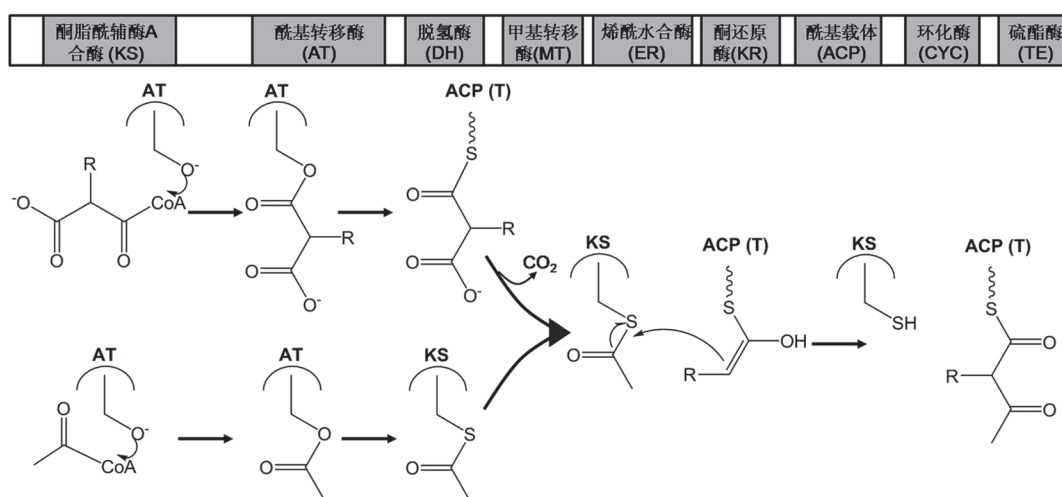


图4 真菌聚酮类合酶的结构和催化的反应(据Keller等2005和Evans等2011修改)

Fig.4 Fungal polyketide synthase (PKS) domain structure and reactions of the domains for polyketide synthesis

等在黄色镰孢中发现(Ashley等1937)。后来发现,禾谷镰孢和燕麦镰孢也能产生该色素。黄色镰刀菌素在感染的种子中富集,使家畜产生疾病(Dvorska等2002)。

黄色镰刀菌素的合成在禾谷镰孢中研究的比较清楚,基因位于染色体上约30 kb的区段内(Malz等2005),包含从FGSG\_02320到FGSG\_02330的11个基因,编码漆酶(GIP1和AurL2)、聚酮合酶(PKS12)、单加氧酶(AurF)、氧甲基转移酶(AurJ)、氧化还原酶(AurO)、转运蛋白(AurT)、脱氢酶(AurZ和AurS) (Frandsen等2011)和两个转录因子(AurR1和AurR2) (Malz等2005; Frandsen等2006) (图5)。

黄色镰刀菌素不似DON等毒素,以终产物的形式转运至胞外,而是将中间产物红镰霉素通过AurT转运到细胞外,由细胞外的GIP1-AurF-AurO-AurS酶复合体催化形成(图5) (Frandsen等2011)。在禾谷镰孢中,黄色镰刀菌素缺失突变体(如PKS12缺失)对小麦穗部(Malz等2005)和胚芽鞘的致病力,与野生型相比没有差异(Zhang等2012);而在培养基上,生长速度加快,孢子的产生增加。黄色镰刀菌素可能对细菌、真菌和动植物细胞的培养具有毒害作用(Medentsev和Akimenko 1998)。

**1.2.2 伏马毒素(fumonisin)** 伏马毒素,又称烟曲霉毒素,早在1988年Gelderblom等人在串珠镰孢中发现(Gelderblom等1988),玉米致病菌层出镰孢也能产

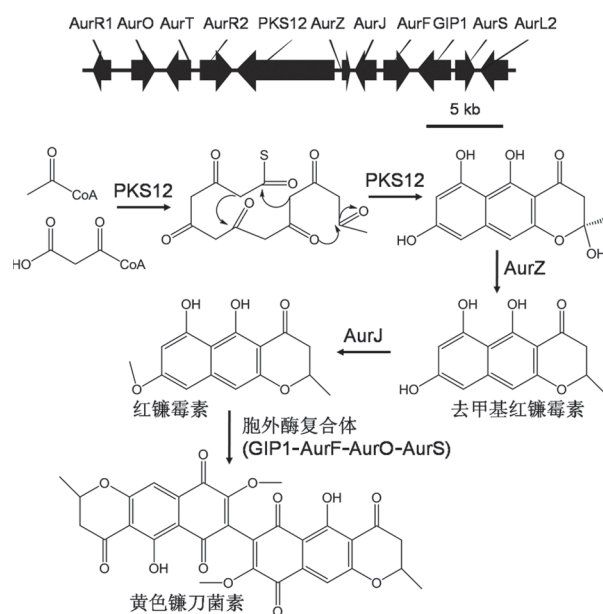


图5 黄色镰刀菌素合成基因簇和合成过程  
(据Frandsen等2006, 2011修改)

Fig.5 Aurofusarin gene cluster and biosynthetic pathway

生(Proctor等2004)。伏马毒素可以引起动物发生癌变,严重的可以产生如马脑白质软化症、猪肺水肿或大鼠肝癌等病症。该毒素有A、B、C和P四种类型,其中,B类型FB1在宿主中的含量最多,达到伏马毒素总含量的70%~80% (Rheeder等2002)。

遗传连锁的分析方法显示,合成伏马毒素的基因形成包含17个基因的基因簇(图6),其中,15个

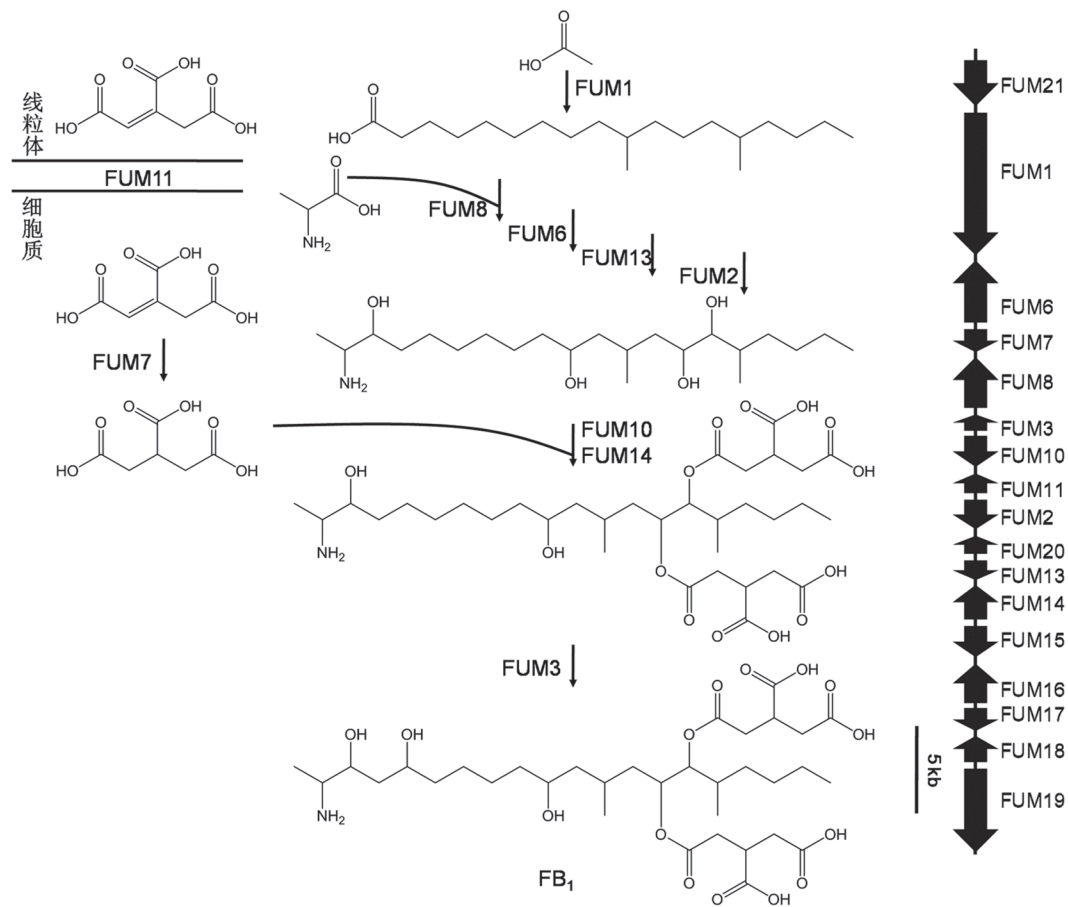


图6 B<sub>1</sub>型伏马毒素的基因簇和合成过程(据Alexander等2009修改)  
Fig.6 Fumonisin B<sub>1</sub> gene cluster and biosynthetic pathway

基因被证实具有相同的表达趋势(Proctor等2003; Brown等2004)。伏马毒素合成,首先是FUM1(聚酮合酶)催化9个醋酸基团和2个甲基形成18个碳原子的骨架(Proctor等1999),后在FUM8氧氨合酶的作用下与一个丙氨酸缩合,形成在C-2有一氨基、C-3有一羰基、C-12和C-16各一甲基的20个碳原子的聚酮氨基酸的缩合物。该物质再经FUM6在C-14和C-15羟基化, FUM13和FUM2的羟基化, FUM10和FUM14酯化以及FUM3的羟基化而形成终产物(图6)(Alexander等2009)。

FUM21是Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub>类型的转录因子,该基因的突变直接导致伏马毒素合成的丧失。实验表明, FUM21能够结合其他基因的启动子而调节其表达。FUM19作为ABC转运蛋白,推测在伏马毒素由细胞内转运到胞外的过程中起作用。然而,在FUM19突变体中,伏马毒素的含量没有发生变化

(Proctor等2003)。这表明,有未知的基因编码的蛋白在伏马毒素转运中起作用。此外,比较有趣的是, FUM11蛋白定位于线粒体内膜,负责三羧酸循环的中间产物由线粒体到细胞质的运输,而该中间产物正好形成了伏马毒素的侧链(Butchko等2006)。这说明真菌中初级代谢和次生代谢的密不可分。

**1.2.3 玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEA)** ZEA可由多种镰孢菌产生,如:禾谷镰孢、黄色镰孢和拟枝孢镰孢等,广泛存在于被感染的宿主体内。这类真菌毒素在实验室条件下,能使猪等动物产生类似雌激素紊乱的症状(Desjardins和Proctor 2007)。

ZEA由9个醋酸基团首尾缩合而成(图7-A)。在禾谷镰孢中, ZEA的合成基因位于染色体上25 kb的区域内,包含PKS4和PKS13两个聚酮合酶基因,编码Zn<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub>结构转录因子的ZEB2和编码异戊

醇氧化酶的ZEB1 (Kim等2005; Gaffoor和Trail 2006; Lysøe等2006)。而负责ZEA从胞内到胞外转运的蛋白是位于基因簇之外的ZRA1编码的ABC转运蛋白(Lee等2011)。ZRA1与基因簇中的4个基因有相似的表达趋势,且受到ZEB2的调控。

**1.2.4 镰孢菌素C (fusarin C)** 镰孢菌素C主要是由禾谷镰孢和串珠镰孢产生。Song等(2004)通过探针杂交的方法,在禾谷镰孢中找到负责镰孢菌素C合成的26 kb区域,包括两个未知功能基因Orf1和Orf4、编码水解酶的基因Orf2、编码单羧酸转运蛋白的基因Orf5和编码ABC转运蛋白的Orf6,以及合成的关键基因FusA,该基因编码一个3 951个氨基酸的镰孢菌素合酶,它包含聚酮合酶和非核糖体多肽合成酶(NRPS)的功能结构域,是第一个在丝状真菌中发现的PKS-NRPS杂合酶。在禾谷镰孢和串珠镰孢的fusA突变体中,镰孢菌素的合成完全丧失。

镰孢菌素C是甲基化带有多聚不饱和和侧链的

2-吡咯烷酮, C-13和C-14有几个氧环(图7-C)。已有的实验结果显示,镰孢菌素是由14个碳的聚酮和三羧酸循环中的四碳中间产物缩合而成(Hoffmeister和Keller 2007)。

**1.2.5 比卡菌素(bikaverin)** 比卡菌素是一种深红色的色素,于1949年第1次发现。它与ZEA相同,也属于芳香族的聚酮类化合物,由9个醋酸基团经折叠和交叉连接形成骨架(图7-D)。通过比较串珠镰孢在丰富培养基和氮源缺乏培养基上的表达差异基因,获得了在氮源缺乏条件下高表达基因Pks4,该基因编码的蛋白含有典型的聚酮合酶的结构。pks4突变体不能产生比卡菌素(Linnemannstons等2002)。与Pks4(现改名为Bik1)相邻的5个基因参与比卡菌素的合成,分别编码FAD依赖的单加氧酶(Bik2)、氧甲基转移酶(Bik3)、NmrA类似的转录因子(Bik4)、Zn<sub>2</sub>Cys6类型的转录因子(Bik5)和MFS类的转运蛋白(Bik6)(Wiemann等2009)。

比卡菌素的合成主要受到4个方面的影响: AreA

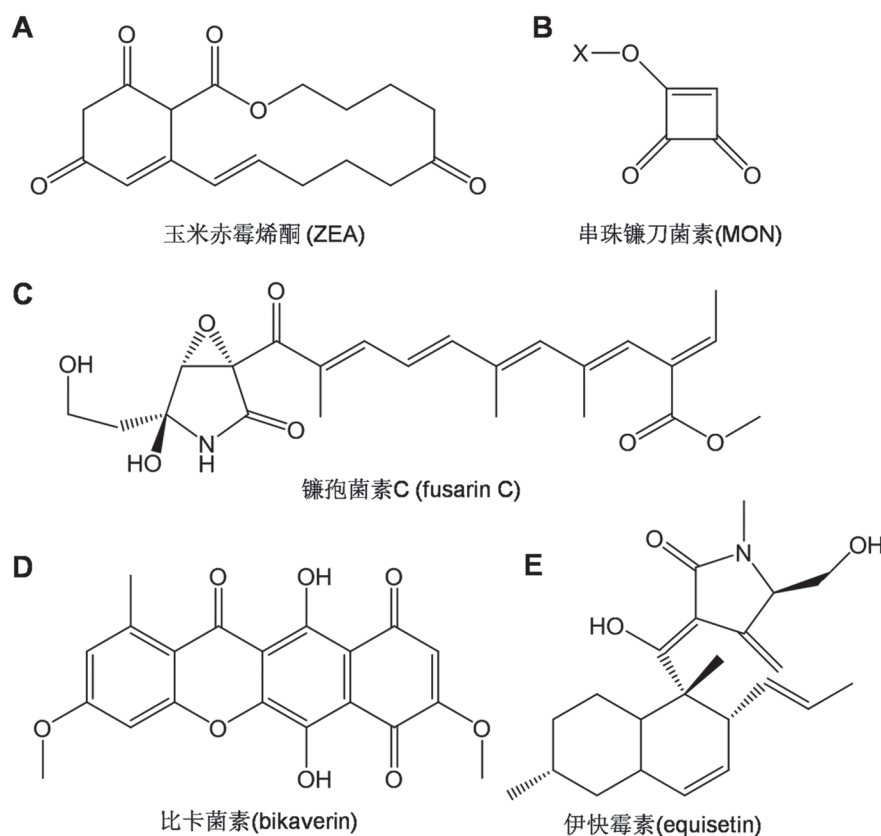


图7 玉米赤霉烯酮、串珠镰刀菌素、镰孢菌素C、比卡菌素和伊快霉素的化学结构式  
Fig.7 Chemical structures of zearalenone, moniliformin, fusarin C, bikaverin and equisetin



的正调节、PacC的抑制、时间的调节和内部基因的相互调节,例如,在任何一个合成相关基因的突变体中,其他基因的表达均有明显的下降(Wie-mann等2009)。除此之外,Rodriguez-Ortiz等(2010)发现,在氮源缺乏、丰富的蔗糖或者少盐的条件下,比卡菌素的合成明显增加。

**1.2.6 伊快霉素(equisetin)** 伊快霉素是由木贼镰孢和半裸镰孢产生的一种次生代谢产物,能在体外实验中抑制艾滋病毒HIV-1整合酶的活性,而对实验动物小鼠只有中等毒性,从而对艾滋病毒导致的人体免疫缺陷的病症具有一定的治疗作用(Singh等1998; Desjardins和Proctor 2007)。伊快霉素由聚酮的衍生物萘烷和氨基酸衍生的杂环四胺酸组成(图7-E), Sims等(2005)在异孢镰孢中发现合成伊快霉素的关键基因*EQIS*,其编码蛋白与镰孢菌素合酶一样,也是PKS-NRPS杂合酶。分析*EQIS*的旁邻基因,发现有的编码调节因子,有的编码具有氧化功能的蛋白,暗示这些基因可能参与了伊快霉素的合成。

**1.2.7 串珠镰孢菌素(moniliformin, MON)** MON是在1973年由Cole等人在串珠镰孢中发现的,后来发现许多镰孢菌属的真菌均能产生(Fotso等2002)。MON的结构比较简单(图7-B),具有极强的极性,能溶于水,在酸性条件下最为稳定,广泛存在于各种被感染的玉米和小麦等农作物中,能够阻止丙酮酸进入三羧酸循环,最终使人体产生血淋巴活力降低,肌无力,呼吸困难,心肌增生,肺和肾脏组织的病变,严重危害人畜健康(Jestoi 2008)。对于MON的合成的分子机制还不清楚。

### 1.3 非核糖体多肽类(non-ribosomal peptides)

广谱抗生素盘尼西林(Smith等1990)、玉米穗腐病菌和炭色旋孢腔菌产生的HC-toxin (Walton 2006)、小麦枯萎病的致病真菌链格孢产生的AM-toxin (Johnson等2000)都属于非核糖体多肽类,由非核糖体多肽合成酶(NRPS)催化产生。NRPS一般包括数个催化模块和位于C端的硫酯形成结构域(TE),每个催化模块包括:腺苷酰化结构域(A)、肽基转运蛋白(P)和多肽缩合结构域(C)。底物氨基酸经由A结构域的特异性识别并腺苷酰化,以硫酯键的形式结合到P结构域。随后,结合在NRPS不同P结构域的氨基酸缩合形成多肽,在TE结构域

的作用下,从NRPS上释放出来(图8)(Keller等2005; Hoffmeister和Keller 2007)。所得多肽或经甲基化、差向异构化或者环化,形成最终的非核糖体多肽类化合物。镰孢菌属真菌产生的主要有铁载体、恩镰孢菌素和白僵菌素(图9)。

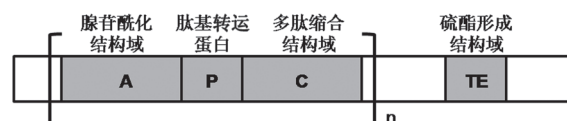


图8 非核糖体多肽合成酶结构域

Fig.8 Nonribosomal peptide synthetase domain structure

**1.3.1 铁载体(siderophore)** 铁载体是微生物分泌到细胞外的小的多肽(图9-A),能够帮助其摄取胞外的铁离子。非核糖体多肽合成酶(NRPS)和鸟氨酸-N<sup>5</sup>-单加氧酶是合成铁载体最主要的两个酶。构巢曲霉的铁载体合成相关的基因在染色体上成簇存在(Yuan等2001; Eisendle等2004)。而在禾谷镰孢中,*NPS6* (Oide等2006)和*SIDI* (Greenshields等2007)是负责铁载体合成的基因,位于染色体上不相邻的区域。任何一个基因的突变都会导致铁载体缺失而无法摄取胞外的铁离子,削弱禾谷镰孢对宿主的致病力。如果外源施加柠檬酸铁,突变体的致病力得以恢复。此外,突变体在氧化胁迫条件下,生长速度与野生型相比明显减慢。预示着,铁离子在真菌抵抗体外或者宿主体内氧化胁迫的过程中起重要的作用。

铁载体在真菌中广泛存在,例如在玉米小斑病菌(*Cochliobolus heterostrophus*)、水稻胡麻斑病菌(*Cochliobolus miyabeanus*)和芸薹生链格孢(*Alternaria brassicicola*)中,*NPS6*的突变体与在禾谷镰孢中相同,表现出对宿主致病力的下降和对过氧化物的敏感性(Oide等2006)。将粗糙脉孢菌同源的*NPS6*基因转化玉米小斑病菌的突变体,其致病力得到恢复。这说明,丝状子孢子的*NPS6*功能十分保守。

**1.3.2 恩镰孢菌素(enniatin)和白僵菌素(beauvericin)** 恩镰孢菌素和白僵菌素的合成过程和分子结构都十分相似,均是由核糖体合酶合成的环状六缩酚酸肽。恩镰孢菌素是由含N-甲基侧链的L-氨基酸(缬氨酸、亮氨酸或异亮氨酸)和D-2-羟基

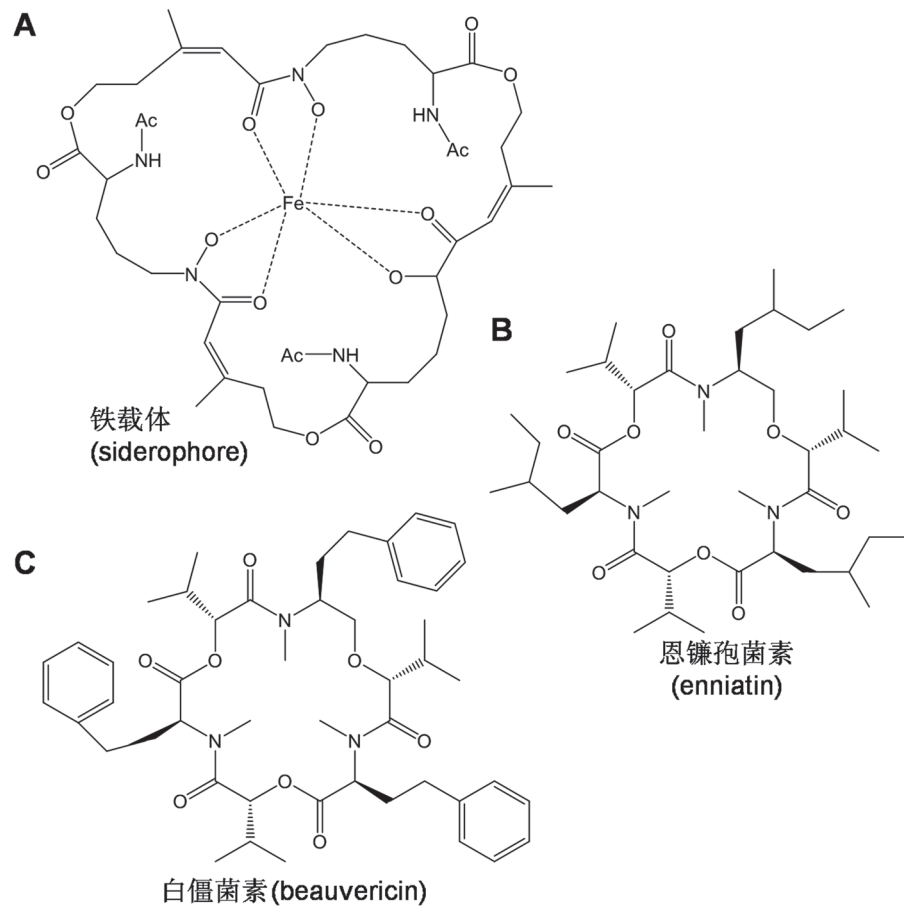


图9 铁载体、恩镰孢菌素和白僵菌素的化学结构式(据Oide等2006; Hoffmeister和Keller 2007修改)

Fig.9 Chemical structures of siderophore, enniatin and beauvericin

戊酸在恩镰孢菌素合成酶(Esyn)的作用下合成的(图9-B)。白僵菌素与其不同,苯甲基替代了恩镰孢菌素中的脂肪基团(Hoffmeister和Keller 2007)(图9-C)。Esyn包含C末端环化功能的非核糖体多肽合成酶。在燕麦镰孢中,Esyn的突变体在马铃薯块茎上的致病力明显降低,说明恩镰孢菌素是对植物有毒害作用的次生代谢产物(Herrmann等1996)。

## 2 次生代谢的调节

如前所述,合成某种次生代谢产物的基因在染色体上成簇存在,这就赋予了遗传学操控的便利,也有利于寻找潜在的调控因子。真菌次生代谢产物往往在特定的环境(如pH、碳源和氮源的类型)和生活周期(如产孢和有性生殖时期)中产生(Yu和Keller 2005)。因此,了解其调节机制,对于理解真菌如何平衡次生代谢产物和生长发育或致病的关系提供了理论基础。

## 2.1 转录调节

AflR是第一个被发现的通路特异转录因子,能够调控柄曲霉素和黄曲霉毒素的产生。在镰孢菌中,AurR1是AflR的同源蛋白,能够调节黄色镰刀菌素的表达。此外,另一个 $Zn_2Cys_6$ 结构的转录因子AurR2的突变,对黄色镰刀菌素的合成没有影响(Frandsen等2006)。这说明,AurR1在黄色镰刀菌素合成调节中的主导作用。在伏马毒素合成的基因簇中,*FUM21*编码 $Zn_2Cys_6$ 类型的转录因子,能够调节基因簇中其它基因的表达(Proctor等2003)。与黄色镰刀菌素和伏马毒素不同,单端孢霉烯的合成有两个调节因子:Tri6和Tri10,其中的任何一个突变,均会导致毒素合成的显著下降(Seong等2009)。Tri6是 $Zn_2Cys_6$ 类型的转录因子,能够特异结合TNAG-GCCT结构,调节单端孢霉烯合成基因和其他看家基因或致病相关基因的表达(Seong等2009)。

除通路特异的转录因子外, 外界环境信号通过影响Cys<sub>2</sub>His<sub>2</sub>锌指结构的转录因子的表达, 如碳源的调节因子CreA (Dowzer和Kelly 1989)、氮源的调节因子AreA (Hynes 1975)和pH的调节因子Pac1 (Tilburn等1995), 从而精确的调节次生代谢产物的合成与降解(Yu和Keller 2005)。如前所述, 高氮源的环境能够抑制GA的合成, 在串珠镰孢中突变氮源代谢的调节因子AreA, GA的合成显著性的降低, 而且对铵不敏感(Mihlan等2003)。在禾谷镰孢中, 低的pH能够诱导单端孢霉烯的合成(Gardiner等2009b), 而Pac1能够提高胞外pH值, 从而负调节单端孢霉烯合成相关基因的表达, 降低毒素的产生(Merhej等2010)。串珠镰孢中比卡菌素的合成也受到CreA和Pac1的调节(Wiemann等2009)。此外, 单端孢霉烯在不同氮源和碳源的条件也有不同程度的合成(Jiao等2008; Gardiner等2009a)。光照和高碳源能够诱导类胡萝卜素的合成, 高氮源则会抑制其产生(Garbayo等2003; Prado等2004)。

## 2.2 与生长发育相关的调节

在构巢曲霉中, velvet复合体(VelB/VeA/LaeA)

很好地解释了光、有性生殖和次生代谢的关系(图10)。VeA在黑暗条件下表达, 能够负调节有性生殖和次生代谢; VelB在有性生殖中表达; LaeA是一个广谱的次生代谢的调节因子。VelB能够结合VeA的N端, 而LaeA能够结合VeA的C端。在有光的条件下, VeA/VelB复合体滞留在细胞质中, 阻碍了有性生殖和次生代谢产物的产生; 在黑暗条件下, VeA/VelB复合体进入细胞核, 与LaeA结合, 通过调节组蛋白的甲基化而促进次生代谢产物的产生, 调节真菌的有性生殖(图10)。此外, 染色质作为真核生物中一切遗传物质的基础, 染色质结构的改变直接控制着基因的开启和沉默。增加组蛋白的乙酰化或者抑制组蛋白去乙酰化酶的活性, 都能使曲霉菌中黄曲霉毒素和柄曲霉毒素的合成增加(Strauss和Reyes-Dominguez 2011)。这些说明, 染色质构象的变化直接影响次生代谢产物的产生(图10)。

依据序列同源性比较, 在禾谷镰孢中找到了与之相对应的蛋白, 分别为FgVeA、FgVelB和Fg-LaeA。FgVeA和FgVelB能够调节DON毒素的合

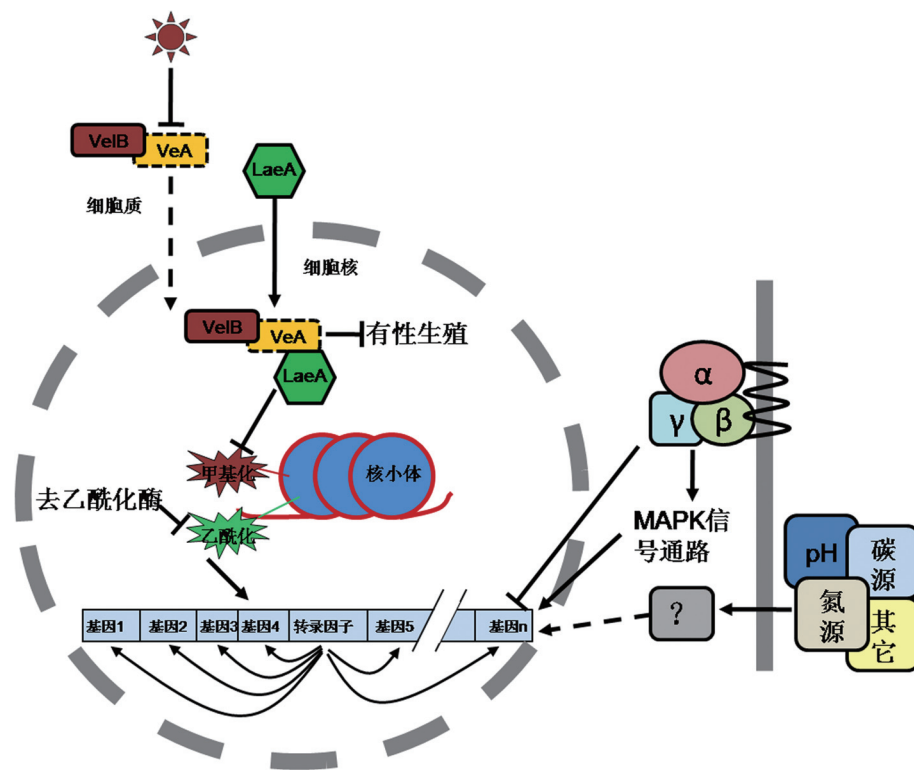


图10 次生代谢的调节(据Bayram等2008; Strauss和Reyes-Dominguez 2011修改)

Fig.10 Regulation of secondary metabolism

成、无性生殖、脂类代谢和对宿主的致病性。*Fg-LaeA*的突变会降低黄色镰刀菌素的产生。这预示着,在禾谷镰孢中,velvet复合体在调节生殖和次生代谢产物方面也有相似的作用。然而,体外酵母双杂交的结果显示,FgVeA不能和FgVelB、Fg-LaeA相互作用(Jiang等2011, 2012)。而且,禾谷镰孢中去乙酰化酶HDF1的突变,会降低DON的合成(Li等2011)。这些说明,在不同物种中,次生代谢产物的调节具有差异性。

### 2.3 上游信号的调节

真菌能够快速响应外界信号的变化,调节体内次生代谢产物的产生。在这个过程中,G蛋白作为真菌中较为保守的信号分子,参与调控次生代谢。以禾谷镰孢为例,G蛋白三聚体的 $\alpha$ 和 $\beta$ 亚基,能够负调节DON和ZEA的合成(Yu等2008)。而G蛋白三聚体的调节因子RGS,通过对G蛋白的调节而影响次生代谢产物的产生(Park等2012)。在G蛋白下游的MAPK信号通路中,MAP1影响禾谷镰孢的有性生殖和DON的合成(Urban等2003);HOG1能促进有性生殖,抑制黄色镰刀菌素的合成(Ochiai等2007)。这些都说明真菌中的信号传导是个较为复杂的过程,而如何调控或者影响着次生代谢,需要进一步的研究。

### 2.4 次生代谢产物之间的调节

除转录调节,外界因子的调节和信号分子的调节外,次生代谢产物之间也会相互影响。类胡萝卜素和GA均属于二萜类化合物,其底物均是由类异戊二烯合成途径产生的GGPP。实验数据显示,类胡萝卜素和GA的合成具有此消彼长的现象(Candau等1991)。

## 3 结语

随着镰孢菌属真菌全基因组测序的不断完成,预测次生代谢产物的基因簇就变得简单易行(Ma等2010),而次生代谢产物却很难确定。以禾谷镰孢为例,其基因组中共有15个PKS基因(Varga等2005),目前已知,*PKS12*是合成黄色镰刀菌素的关键基因(Kim等2005; Malz等2005; Frandsen等2006);*PKS4*和*PKS13*是合成玉米赤霉烯酮的关键基因(Linnemannstons等2002; Lysøe等2006);*PKS10*在合成镰孢菌素C中不可或缺;*PKS3*可以合成一种黑紫色的子囊孢子色素;而其余10个PKS基因的功能

未知。另外,禾谷镰孢基因组中,包含15个编码NRPS的基因(Tobiasen等2007; Varga等2005),其中*NPS6*的产物铁载体负责胞外铁离子的摄取(Oide等2006),*NPS2*负责铁菌素(ferricrocin)的合成(Tobiasen等2007),*NPS5*和*NPS9*在小麦胚芽鞘的致病过程中发挥作用(Zhang等2012)。而其他NRPS的产物和功能仍不清楚。在次生代谢产物的基因簇中,编码氧化还原酶、甲基化酶、乙酰化酶、酯酶和转运蛋白的基因,并非是其合成所必需的。因此,单纯通过序列比对的方式,很难得到满意的答案。与此同时,萜类合酶作为合成萜类的关键酶,在一级结构上存在较低的同源性,这也给此类次生代谢产物的研究带来了很大的困难。

基因预测的目的在于寻找新的次生代谢产物,而在实验室条件下,通常很难诱导次生代谢产物的产生(Hertweck 2009; Brakhage和Schroeckh 2011)。而且,真菌次生代谢产物具有组织和宿主的特异性。比如,在禾谷镰孢中,*Tri5*编码的蛋白作为合成单端孢霉烯的关键酶,直接指示着该产物的产生,使用*Tri5*启动子加荧光标记的禾谷镰孢感染小麦穗部,发现*Tri5*只在感染的花轴处表达(Ilgen等2009)。除此之外,在禾谷镰孢感染小麦胚芽鞘的过程中,单端孢霉烯合成相关的基因均未有表达(Zhang等2012)。黄色镰孢的*Tri6*突变体中,DON的合成降低,在硬质小麦颈部的致病力明显下降(Scherm等2011)。这些说明,DON在颈腐病(crown rot)的发病过程中起到致病因子的作用。*Tri5*的突变体,在对小麦穗部的感染中因不能穿过花轴而影响其致病性,但其在大麦穗部和拟南芥花的致病力并未受到影响(Maier等2006; Cuzick等2008)。综上所述,单端孢霉烯的合成及其作用具有组织和宿主的特异性。而这些是否与植物组织特定的结构或者防御相关,有待进一步的研究。

次生代谢所需要的酶、能量和底物都是初级代谢的产物,正如前面提到的,伏马毒素的侧链来源于三羧酸循环的中间产物,次生代谢和初级代谢有着必然的联系。而体外氮源和碳源也直接影响着次生代谢产物的产生。因此,有种观点认为,次生代谢是初级代谢废物的储存和清除机制,而在长期的进化过程中,形成了对侵染或者自身生长有益的次生代谢产物(Roze等2011)。然而,初级

代谢和次级代谢调控的分子机制仍不清楚。

目前, 对镰孢菌次生代谢产物的了解还十分有限, 多个已知代谢物的合成过程还不甚清楚。如何从整体调节次生代谢产物的产生, 使其服务于人类, 仍然值得我们深入探讨。

### 参考文献

- Alexander NJ, McCormick SP, Waalwijk C, van der Lee T, Proctor RH (2011). The genetic basis for 3-ADON and 15-ADON trichothecene chemotypes in *Fusarium*. *Fungal Genet Biol*, 48: 485~495
- Alexander NJ, Proctor RH, McCormick SP (2009). Genes, gene clusters, and biosynthesis of trichothecenes and fumonisins in *Fusarium*. *Toxin Rev*, 28: 198~215
- Ashley JN, Hobbs BC, Raistrick H (1937). Studies in the biochemistry of micro-organisms LIII. The crystalline colouring matters of *Fusarium culmorum* (W. G. Smith) sacc. and related forms. *Biochem J*, 31: 385~397
- Bayram O, Krappmann S, Ni M, Bok JW, Helmstaedt K, Valerius O, Braus-Stromeier S, Kwon NJ, Keller NP, Yu JH et al (2008). VelB/VeA/LaeA complex coordinates light signal with fungal development and secondary metabolism. *Science*, 320: 1504~1506
- Bennett JW, Klich M (2003). Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*, 16: 497~516
- Brakhage AA, Schroeckh V (2011). Fungal secondary metabolites-Strategies to activate silent gene clusters. *Fungal Genet Biol*, 48: 15~22
- Brown DW, Dyer RB, McCormick SP, Kendra DF, Plattner RD (2004). Functional demarcation of the *Fusarium* core trichothecene gene cluster. *Fungal Genet Biol*, 41: 454~462
- Brown DW, McCormick SP, Alexander NJ, Proctor RH, Desjardins AE (2002). Inactivation of a cytochrome P-450 is a determinant of trichothecene diversity in *Fusarium* species. *Fungal Genet Biol*, 36: 224~233
- Butchko RA, Plattner RD, Proctor RH (2006). Deletion analysis of *FUM* genes involved in tricarballic ester formation during fumonisin biosynthesis. *J Agric Food Chem*, 54: 9398~9404
- Candau R, Avalos J, Cerda-Olmedo E (1991). Gibberellins and carotenoids in the wild type and mutants of *Gibberella fujikuroi*. *Appl Environ Microbiol*, 57: 3378~3382
- Carattoli A, Cogoni C, Morelli G, Macino G (1994). Molecular characterization of upstream regulatory sequences controlling the photoinduced expression of the albino-3 gene of *Neurospora crassa*. *Mol Microbiol*, 13: 787~795
- Cole RJ, Kirksey JW, Cutler HG, Doupnik BL, Peckham JC (1973). Toxin from *Fusarium moniliforme*: effects on plants and animals. *Science*, 179: 1324~1326
- Cuomo CA, Guldener U, Xu JR, Trail F, Turgeon BG, Di Pietro A, Walton JD, Ma LJ, Baker SE, Rep M et al (2007). The *Fusarium graminearum* genome reveals a link between localized polymorphism and pathogen specialization. *Science*, 317: 1400~1402
- Cuzick A, Urban M, Hammond-Kosack K (2008). *Fusarium graminearum* gene deletion mutants *map1* and *tri5* reveal similarities and differences in the pathogenicity requirements to cause disease on Arabidopsis and wheat floral tissue. *New Phytol*, 177: 990~1000
- Desjardins AE, Proctor RH (2007). Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *Int J Food Microbiol*, 119: 47~50
- Dowzer CE, Kelly JM (1989). Cloning of the *creA* gene from *Aspergillus nidulans*: a gene involved in carbon catabolite repression. *Curr Genet*, 15: 457~459
- Dvorska JE, Surai PF, Speake BK, Sparks NHC (2002). Antioxidant systems of the developing quail embryo are compromised by mycotoxin aurofusarin. *Comp Biochem Physiol Part C*, 131: 197~205
- Eisendle M, Oberegger H, Buttinger R, Illmer P, Haas H (2004). Biosynthesis and uptake of siderophores is controlled by the PacC-mediated ambient-pH regulatory system in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryotic Cell*, 3: 561~563
- Evans BS, Robinson SJ, Kelleher NL (2011). Surveys of non-ribosomal peptide and polyketide assembly lines in fungi and prospects for their analysis *in vitro* and *in vivo*. *Fungal Genet Biol*, 48: 49~61
- Fotso J, Leslie JF, Smith JS (2002). Production of beauvericin, moniliformin, fusaproliferin, and fumonisins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, and B<sub>3</sub> by fifteen ex-type strains of *Fusarium* species. *Appl Environ Microbiol*, 68: 5195~5197
- Frandsen RJ, Nielsen NJ, Maolanon N, Sorensen JC, Olsson S, Nielsen J, Giese H (2006). The biosynthetic pathway for aurofusarin in *Fusarium graminearum* reveals a close link between the naphthoquinones and naphthopyrones. *Mol Microbiol*, 61: 1069~1080
- Frandsen RJ, Schutt C, Lund BW, Staerk D, Nielsen J, Olsson S, Giese H (2011). Two novel classes of enzymes are required for the biosynthesis of aurofusarin in *Fusarium graminearum*. *J Biol Chem*, 286: 10419~10428
- Gaffoor I, Trail F (2006). Characterization of two polyketide synthase genes involved in zearalenone biosynthesis in *Gibberella zeae*. *Appl Environ Microbiol*, 72: 1793~1799
- Garbayo I, Vilchez C, Nava-Saucedo JE, Barbotin JN (2003). Nitrogen, carbon and light-mediated regulation studies of carotenoid biosynthesis in immobilized mycelia of *Gibberella fujikuroi*. *Enzyme Micro Technol*, 33: 629~634
- Gardiner DM, Kazan K, Manners JM (2009a). Novel genes of *Fusarium graminearum* that negatively regulate deoxynivalenol production and virulence. *Mol Plant Microbe Interact*, 22: 1588~1600
- Gardiner DM, Osborne S, Kazan K, Manners JM (2009b). Low pH regulates the production of deoxynivalenol by *Fusarium graminearum*. *Microbiology*, 155: 3149~3156
- Gelderblom WC, Jaskiewicz K, Marasas WF, Thiel PG, Horak RM, Vlegaar R, Kriek NP (1988). Fumonisins-novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol*, 54: 1806~1811
- Greenshields DL, Liu G, Feng J, Selvaraj G, Wei Y (2007). The siderophore biosynthetic gene *SID1*, but not the ferroxidase gene

- FET3*, is required for full *Fusarium graminearum* virulence. *Mol Plant Pathol*, 8: 411~421
- Hedden P, Phillips AL, Rojas MC, Carrera E, Tudzynski B (2001). Gibberellin biosynthesis in plants and fungi: a case of convergent evolution? *J Plant Growth Regul*, 20: 319~331
- Herrmann M, Zocher R, Haese A (1996). Effect of disruption of the enniatin synthetase gene on the virulence of *Fusarium avenaceum*. *Mol Plant Microbe Interact*, 9: 226~232
- Hertweck C (2009). Hidden biosynthetic treasures brought to light. *Nat Chem Biol*, 5: 450~452
- Hoffmeister D, Keller NP (2007). Natural products of filamentous fungi: enzymes, genes, and their regulation. *Nat Prod Rep*, 24: 393~416
- Hynes MJ (1975). Studies on the role of the *areA* gene in the regulation of nitrogen catabolism in *Aspergillus nidulans*. *Aust J Biol Sci*, 28: 301~313
- Ilgen P, Hadelers B, Maier FJ, Schäfer W (2009). Developing kernel and rachis node induce the trichothecene pathway of *Fusarium graminearum* during wheat head infection. *Mol Plant Microbe Interact*, 22: 899~908
- Jestoi M (2008). Emerging *Fusarium*-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48: 21~49
- Jiang J, Liu X, Yin Y, Ma Z (2011). Involvement of a velvet protein FgVeA in the regulation of asexual development, lipid and secondary metabolisms and virulence in *Fusarium graminearum*. *PLoS ONE*, 6: e28291
- Jiang J, Yun Y, Liu Y, Ma Z (2012). *FgVELB* is associated with vegetative differentiation, secondary metabolism and virulence in *Fusarium graminearum*. *Fungal Genet Biol*, 45: 653~662
- Jiao F, Kawakami A, Nakajima T (2008). Effects of different carbon sources on trichothecene production and *Tri* gene expression by *Fusarium graminearum* in liquid culture. *FEMS Microbiol Lett*, 285: 212~219
- Jin JM, Lee J, Lee YW (2010). Characterization of carotenoid biosynthetic genes in the ascomycete *Gibberella zeae*. *FEMS Microbiol Lett*, 302: 197~202
- Johnson RD, Johnson L, Itoh Y, Kodama M, Otani H, Kohmoto K (2000). Cloning and characterization of a cyclic peptide synthetase gene from *Alternaria alternata* apple pathotype whose product is involved in AM-toxin synthesis and pathogenicity. *Mol Plant Microbe Interact*, 13: 742~753
- Keller NP, Turner G, Bennett JW (2005). Fungal secondary metabolism-from biochemistry to genomics. *Nat Rev Microbiol*, 3: 937~947
- Khosla C, Gokhale RS, Jacobsen JR, Cane DE (1999). Tolerance and specificity of polyketide synthases. *Annu Rev Biochem*, 68: 219~253
- Kim YT, Lee YR, Jin J, Han KH, Kim H, Kim JC, Lee T, Yun SH, Lee YW (2005). Two different polyketide synthase genes are required for synthesis of zearalenone in *Gibberella zeae*. *Mol Microbiol*, 58: 1102~1113
- Kristensen R, Torp M, Kosiak B, Holst-Jensen A (2005). Phylogeny and toxigenic potential is correlated in *Fusarium* species as revealed by partial translation elongation factor 1 alpha gene sequences. *Mycol Res*, 109: 173~186
- Landrum JT, Bone RA (2001). Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Arch Biochem Biophys*, 385: 28~40
- Lee S, Son H, Lee J, Lee YR, Lee YW (2011). A putative ABC transporter gene, *ZRA1*, is required for zearalenone production in *Gibberella zeae*. *Curr Genet*, 57: 343~351
- Lee T, Han YK, Kim KH, Yun SH, Lee YW (2002). *Tri13* and *Tri7* determine deoxynivalenol- and nivalenol-producing chemotypes of *Gibberella zeae*. *Appl Environ Microbiol*, 68: 2148~2154
- Li YM, Wang CF, Liu WD, Wang GH, Kang ZS, Kistler HC, Xu JR (2011). The *HDF1* histone deacetylase gene is important for conidiation, sexual reproduction, and pathogenesis in *Fusarium graminearum*. *Mol Plant Microbe Interact*, 24: 487~496
- Linnemannstons P, Schulte J, del Mar Prado M, Proctor RH, Avalos J, Tudzynski B (2002). The polyketide synthase gene *pkS4* from *Gibberella fujikuroi* encodes a key enzyme in the biosynthesis of the red pigment bikaverin. *Fungal Genet Biol*, 37: 134~148
- Lysøe E, Klemsdal SS, Bone KR, Frandsen RJ, Johansen T, Thrane U, Giese H (2006). The *PKS4* gene of *Fusarium graminearum* is essential for zearalenone production. *Appl Environ Microbiol*, 72: 3924~3932
- Ma LJ, van der Does HC, Borkovich KA, Coleman JJ, Daboussi MJ, Di Pietro A, Dufresne M, Freitag M, Grabherr M, Henrissat B et al (2010). Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature*, 464: 367~373
- Maier FJ, Miedaner T, Hadelers B, Felk A, Salomon S, Lemmens M, Kassner H, Schäfer W (2006). Involvement of trichothecenes in fusarioses of wheat, barley and maize evaluated by gene disruption of the trichodiene synthase (*Tri5*) gene in three field isolates of different chemotype and virulence. *Mol Plant Pathol*, 7: 449~461
- Malz S, Grell MN, Thrane C, Maier FJ, Rosager P, Felk A, Albertsen KS, Salomon S, Bohn L, Schäfer W, Giese H (2005). Identification of a gene cluster responsible for the biosynthesis of aurofusarin in the *Fusarium graminearum* species complex. *Fungal Genet Bio*, 42: 420~433
- McCormick SP, Harris LJ, Alexander NJ, Ouellet T, Saparno A, Allard S, Desjardins AE (2004). *Tri1* in *Fusarium graminearum* encodes a P450 oxygenase. *Appl Environ Microbiol*, 70: 2044~2051
- Medentsev AG, Akimenko VK (1998). Naphthoquinone metabolites of the fungi. *Phytochemistry*, 47: 935~959
- Meek IB, Peplow AW, Ake C, Jr., Phillips TD, Beremand MN (2003). *TriI* encodes the cytochrome P450 monooxygenase for C-8 hydroxylation during trichothecene biosynthesis in *Fusarium sporotrichioides* and resides upstream of another new *Tri* gene. *Appl Environ Microbiol*, 69: 1607~1613
- Menke J, Dong Y, Kistler HC (2012). *Fusarium graminearum* *Tri12p* influences virulence to wheat and trichothecene accumulation. *Mol Plant Microbe Interact*, 25: 1408~1418
- Merhej J, Richard-Forget F, Barreau C (2010). The pH regulatory factor Pac1 regulates *Tri* gene expression and trichothecene production in *Fusarium graminearum*. *Fungal Genet Biol*, 48: 275~284

- Mihlan M, Homann V, Liu TW, Tudzynski B (2003). AREA directly mediates nitrogen regulation of gibberellin biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*, but its activity is not affected by NMR. *Mol Microbiol*, 47: 975-991
- Munoz GA, Agosin E (1993). Glutamine involvement in nitrogen control of gibberellic acid production in *Gibberella fujikuroi*. *Appl Environ Microbiol*, 59: 4317-4322
- Nasmith CG, Walkowiak S, Wang L, Leung WWY, Gong Y, Johnston A, Harris LJ, Guttman DS, Subramaniam R (2011). Tri6 is a global transcription regulator in the phytopathogen *Fusarium graminearum*. *PLoS Pathog*, 7: e1002266
- Ochiai N, Tokai T, Nishiuchi T, Takahashi-Ando N, Fujimura M, Kimura M (2007). Involvement of the osmosensor histidine kinase and osmotic stress-activated protein kinases in the regulation of secondary metabolism in *Fusarium graminearum*. *Biochem Biophys Res Commun*, 363: 639-644
- O'Donnell K, Ward TJ, Geiser DM, Corby Kistler H, Aoki T (2004). Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. *Fungal Genet Biol*, 41: 600-623
- Oide S, Moeder W, Krasnoff S, Gibson D, Haas H, Yoshioka K, Turgeon BG (2006). *NPS6*, encoding a nonribosomal peptide synthetase involved in siderophore-mediated iron metabolism, is a conserved virulence determinant of plant pathogenic ascomycetes. *Plant Cell*, 18: 2836-2853
- Park AR, Cho AR, Seo JA, Min K, Son H, Lee J, Choi GJ, Kim JC, Lee YW (2012). Functional analyses of regulators of G protein signaling in *Gibberella zeae*. *Fungal Genet Biol*, 49: 511-520
- Prado MM, Prado-Cabrero A, Fernandez-Martin R, Avalos J (2004). A gene of the opsin family in the carotenoid gene cluster of *Fusarium fujikuroi*. *Curr Genet*, 46: 47-58
- Proctor RH, Brown DW, Plattner RD, Desjardins AE (2003). Co-expression of 15 contiguous genes delineates a fumonisin biosynthetic gene cluster in *Gibberella moniliformis*. *Fungal Genet Biol*, 38: 237-249
- Proctor RH, Desjardins AE, Plattner RD, Hohn TM (1999). A polyketide synthase gene required for biosynthesis of fumonisin mycotoxins in *Gibberella fujikuroi* mating population A. *Fungal Genet Biol*, 27: 100-112
- Proctor RH, Hohn TM, McCormick SP, Desjardins AE (1995). *Tri6* encodes an unusual zinc finger protein involved in regulation of trichothecene biosynthesis in *Fusarium sporotrichioides*. *Appl Environ Microbiol*, 61: 1923-1930
- Proctor RH, Plattner RD, Brown DW, Seo JA, Lee YW (2004). Discontinuous distribution of fumonisin biosynthetic genes in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycol Res*, 108: 815-822
- Rheeder JP, Marasas WF, Vismer HF (2002). Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl Environ Microbiol*, 68: 2101-2105
- Rodriguez-Ortiz R, Mehta BJ, Avalos J, Limon MC (2010). Stimulation of bikaverin production by sucrose and by salt starvation in *Fusarium fujikuroi*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 85: 1991-2000
- Rodriguez-Ortiz R, Michiels C, Rep M, Limon MC, Avalos J (2012). Genetic basis of carotenoid overproduction in *Fusarium oxysporum*. *Fungal Genet Biol*, 49: 684-696
- Roze LV, Chanda A, Linz JE (2011). Compartmentalization and molecular traffic in secondary metabolism: a new understanding of established cellular processes. *Fungal Genet Biol*, 48: 35-48
- Santini A, Ritieni A, Fogliano V, Randazzo G, Mannina L, Logrieco A, Benedetti E (1996). Structure and absolute stereochemistry of fusaproliferin, a toxic metabolite from *Fusarium proliferatum*. *J Nat Prod*, 59: 109-112
- Scherm B, Orru M, Balmas V, Spanu F, Azara E, Delogu G, Hammond TM, Keller NP, Migheli Q (2011). Altered trichothecene biosynthesis in *TRI6*-silenced transformants of *Fusarium culmorum* influences the severity of crown and foot rot on durum wheat seedlings. *Mol Plant Pathol*, 12: 759-771
- Seong KY, Pasquali M, Zhou X, Song J, Hilburn K, McCormick S, Dong Y, Xu JR, Kistler HC (2009). Global gene regulation by *Fusarium* transcription factors *Tri6* and *Tri10* reveals adaptations for toxin biosynthesis. *Mol Microbiol*, 72: 354-367
- Sims JW, Fillmore JP, Warner DD, Schmidt EW (2005). Equisetin biosynthesis in *Fusarium heterosporum*. *Chem Commun (Camb)*: 186-188
- Singh SB, Zink DL, Goetz MA, Dombrowski AW, Polishook JD, Hazuda DJ (1998). Equisetin and a novel opposite stereochemical homolog phomasetin, two fungal metabolites as inhibitors of HIV-1 integrase. *Tetrahedron Lett*, 39: 2243-2246
- Smith DJ, Earl AJ, Turner G (1990). The multifunctional peptide synthetase performing the first step of penicillin biosynthesis in *Penicillium chrysogenum* is a 421 073 dalton protein similar to *Bacillus brevis* peptide antibiotic synthetases. *EMBO J*, 9: 2743-2750
- Song Z, Cox RJ, Lazarus CM, Simpson TT (2004). Fusarin C biosynthesis in *Fusarium moniliforme* and *Fusarium venenatum*. *Chembiochemistry*, 5: 1196-1203
- Strauss J, Reyes-Dominguez Y (2011). Regulation of secondary metabolism by chromatin structure and epigenetic codes. *Fungal Genet Biol*, 48: 62-69
- Thewes S, Prado-Cabrero A, Prado MM, Tudzynski B, Avalos J (2005). Characterization of a gene in the *car* cluster of *Fusarium fujikuroi* that codes for a protein of the carotenoid oxygenase family. *Mol Gen Genomics*, 274: 217-228
- Tilburn J, Sarkar S, Widdick DA, Espeso EA, Orejas M, Mungroo J, Penalva MA, Arst HN Jr (1995). The *Aspergillus* PacC zinc finger transcription factor mediates regulation of both acid- and alkaline-expressed genes by ambient pH. *EMBO J*, 14: 779-790
- Tobiasen C, Aahman J, Ravnholt KS, Bjerrum MJ, Grell MN, Giese H (2007). Nonribosomal peptide synthetase (*NPS*) genes in *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* and *F. pseudograminearum* and identification of *NPS2* as the producer of ferricrocin. *Curr Genet*, 51: 43-58
- Tudzynski B (2005). Gibberellin biosynthesis in fungi: genes, enzymes, evolution, and impact on biotechnology. *Appl Microbiol Biotechnol*, 66: 597-611
- Tudzynski B, Holter K (1998). Gibberellin biosynthetic pathway in *Gibberella fujikuroi*: evidence for a gene cluster. *Fungal Genet*

- Biol, 25: 157~170
- Tudzynski B, Homann V, Feng B, Marzluf GA (1999). Isolation, characterization and disruption of the *areA* nitrogen regulatory gene of *Gibberella fujikuroi*. *Mol Gen Genet*, 261: 106~114
- Tudzynski B, Kawaide H, Kamiya Y (1998). Gibberellin biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*: cloning and characterization of the copalyl diphosphate synthase gene. *Curr Genet*, 34: 234~240
- Tudzynski B, Mihlan M, Rojas MC, Linnemannstons P, Gaskin P, Hedden P (2003). Characterization of the final two genes of the gibberellin biosynthesis gene cluster of *Gibberella fujikuroi*. *J Biol Chem*, 278: 28635~28643
- Urban M, Mott E, Farley T, Hammond-Kosack K (2003). The *Fusarium graminearum MAP1* gene is essential for pathogenicity and development of perithecia. *Mol Plant Pathol*, 4: 347~359
- Varga J, Kocsube S, Toth B, Mesterhazy A (2005). Nonribosomal peptide synthetase genes in the genome of *Fusarium graminearum*, causative agent of wheat head blight. *Acta Biol Hung*, 56: 375~388
- Walton JD (2006). HC-toxin. *Phytochemistry*, 67: 1406~1413
- Wiemann P, Willmann A, Straeten M, Kleigrew K, Beyer M, Humpf HU, Tudzynski B (2009). Biosynthesis of the red pigment bikaverin in *Fusarium fujikuroi*: genes, their function and regulation. *Mol Microbiol*, 72: 931~946
- Yu HY, Seo JA, Kim JE, Han KH, Shim WB, Yun SH, Lee YW (2008). Functional analyses of heterotrimeric G protein G alpha and G beta subunits in *Gibberella zeae*. *Microbiology*, 154: 392~401
- Yu JH, Keller N (2005). Regulation of secondary metabolism in filamentous fungi. *Annu Rev Phytopathol*, 43: 437~458
- Yuan WM, Gentil GD, Budde AD, Leong SA (2001). Characterization of the *Ustilago maydis sid2* gene, encoding a multidomain peptide synthetase in the ferrichrome biosynthetic gene cluster. *J Bacteriol*, 183: 4040~4051
- Zhang XW, Jia LJ, Zhang Y, Jiang G, Li X, Zhang D, Tang WH (2012). In planta stage-specific fungal gene profiling elucidates the molecular strategies of *Fusarium graminearum* growing inside wheat coleoptiles. *Plant Cell*, doi:10.1105/tpc.112.105957