

植物病原卵菌 RxLR 效应基因功能研究进展

韩长志

(西南林业大学 林学院, 云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南 昆明 650224)

摘要:植物病原卵菌包括致病疫霉、大豆疫霉、橡树疫霉以及樟疫霉、拟南芥霜霉等, 其与寄主之间的相互作用基本符合 Zigzag 理论。该理论认为, 病原菌为了操控寄主植物防卫反应, 分泌和转运一些效应分子进入植物细胞中, 从而抑制 PTI, 同时, 植物中识别病原菌效应分子的防卫基因得到激活, 引发 ETI, 随着病原菌与植物的互作类似于“军备竞赛”的不断升级, 植物和病原菌在遗传上实现协同进化。卵菌基因组中包含有数百个高度分化的 RxLR 效应基因, 现从功能多样性、冗余性以及转运机制等方面对已经报道的该类基因功能进行综述, 以期为进一步研究效应蛋白的转运机制、毒性功能, 以及开展对植物病原卵菌致病机理的深入研究提供重要的理论依据。

关键词:植物病原卵菌; 效应基因; PTI; ETI; 功能冗余; Zigzag 理论

中图分类号:S 763 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)05-0188-06

卵菌与真菌在形态上类似, 但在进化关系上较远^[1], 其生物学特征主要表现为细胞壁大多由纤维素构成、营养生长阶段为二倍体、线粒体脊为管状等^[2]。植物病原卵菌主要包括大豆疫霉(*Phytophthora sojae*)、致病疫霉(*P. infestans*)、拟南芥霜霉(*Hyaloperonospora arabidopsis*)、终极腐霉(*Pythium ultimum*)、古巴假霜霉

(*Pseudoperonospora cubensis*)等, 目前上述卵菌的全基因组序列均已正式公布^[3-7]。随着对病原菌无毒基因研究的不断深入, 其编码蛋白可被携带相应抗病基因的植物识别, 表现无毒功能; 而不能被未携带相应抗病基因的植物识别, 表现毒性功能, 基于此, 无毒基因也称为效应基因(effector gene)^[8]。通过生物信息学研究, 植物病原卵菌拥有数百个含有编码 RxLR(R, 精氨酸; x, 任何氨基酸; L, 亮氨酸)保守基序的效应基因, 如此众多效应基因处于快速“诞生和死亡”的变化中^[9]。

Jones 等^[10]通过对植物病原细菌与植物互作的众多研究成果进行分析, 提出用于解释上述二者相互作用的

作者简介:韩长志(1981-), 男, 博士, 讲师, 研究方向为经济林病害生物防治与真菌分子生物学。E-mail: hanchangzhi@gmail.com.

基金项目:西南林业大学校级科研专项资助项目(111117); 云南省重点学科森林保护学科科研资助项目(XKZ200905)。

收稿日期:2013-11-14

[86] Sork V L. Examination of seed dispersal and survival in red oak, *Quercus rubra* (Fagaceae), using metal-tagged acorns[J]. Ecology, 1984, 65(3): 1020-1022.

[87] 陈建平, 李银梅. 小陇山林区辽东栎和华山松天然更新规律初探[J]. 甘肃科技, 2009, 25(10): 143-144.

Research Progress on Nature Regeneration of Wild *Glycyrrhiza uralensis* Fisch

MA Hai-ge¹, JIANG Qi^{1,2}, WANG Zhan-jun², LIU Hua², HE Jian-long²

(1. Key Lab for Restoration and Reconstruction of Degraded Ecosystem in North-western China of Ministry of Education, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021; 2. Institute of Desert Academy of Agriculture and Forestry Sciences of Ningxia, Yichuan, Ningxia 750002)

Abstract: The nature regeneration of wild *Glycyrrhiza uralensis* Fisch from the aspect of *Glycyrrhiza uralensis* bio-ecological characteristics, the ecological factors, disturbances on the basis of collecting plentiful literature were summarized. The research prospects of sprouting regeneration and community regeneration were advanced. In order to improve the understanding of this problem, provide theory basis for resource protection, sustainable utilization of wild *Glycyrrhiza uralensis*, the restoration of vegetation in sandy arid and desertification.

Key words: wild *Glycyrrhiza uralensis* Fisch; nature regeneration

Zigzag 理论,即植物本身具有抵抗病原菌侵染的基础抗性,而当病原菌突破该屏障后,植物会产生病原菌相关分子模式引发的免疫反应(PAMP Triggered Immunity, PTI),随后病原菌会分泌和转运一定数量的效应分子(由效应基因编码的蛋白,下同)进入植物细胞中,从而抑制植物的 PTI;然而,植物并不会“坐以待毙”,其体内识别病原菌效应分子的防卫基因得到激活,产生效应分子引发的免疫反应(Effector Triggered Immunity, ETI)来抑制病原菌;伴随着植物与病原菌二者之间的类似于“军备竞赛”的若干级联反应的出现,从而导致植物和病原菌不断产生新的选择压力,在遗传上实现协同进化。随着对卵菌与植物互作方面研究的不断深入,发现卵菌和植物的互作也基本上符合上述理论^[11]。

现以植物病原卵菌中研究较为清楚的 RxLR 效应基因为研究对象,从其具有的功能多样性、冗余性特点以及保守基序所具有的转运功能等方面进行阐述,以期深入探究卵菌效应基因在其致病过程中所发挥的作用,以及为进一步深入开展其它卵菌效应基因的功能研究提供有力的理论依据。

1 植物病原卵菌 RxLR 效应基因的功能多样性

截止到 2012 年底,植物病原卵菌已经有 17 个无毒基因得到克隆,即 *P. sojae* 的 *Avr1b-1*、*Avr1k*、*Avr1a*、*Avr3a*、*Avr3b*、*Avr3c* 和 *Avr4*/6^[12-17], *H. arabidopsis* 的 *ATR1*、*ATR5*、*ATR13*、*ATR39*^[18-21] 以及来自于 *P. infestans* 的 *Avr1*、*Avr2*、*Avr3a*、*Avr4*、*Avrblb1*、*Avrblb2*、*Avrvnt1*^[22-26]。由于卵菌营养体为二倍体,利用基因敲除技术对其基因功能进行研究存在一定的困难,目前,通常利用农杆菌瞬时表达系统来研究。研究发现,植物病原卵菌 RxLR 效应基因功能呈现出多样性特点^[27-28],即具有抑制 Bax 诱导的细胞死亡功能、抑制 PTI、ETI 功能以及诱导细胞死亡、协同作用调控植物防卫反应等功能。

1.1 *P. sojae* 效应基因 *Avr1b-1* 具有抑制 Bax 诱导的细胞死亡的功能

Avr1b-1 是从植物病原卵菌 *P. sojae* 克隆的第一个无毒基因,对其功能的研究较为深入。Bax 是鼠凋亡蛋白因子,是调控哺乳动物细胞死亡的关键因子,其在植物上表达可引起细胞死亡症状,与由植物抗性基因介导的过敏性坏死反应(HR)相类似^[29]。Bax 也可诱导烟草细胞产生程序性细胞死亡(PCD),其表型类似于烟草的 HR^[30]。

Dou 等^[31]对 *Avr1b-1* 基因功能进行了研究,利用不同的表达载体,将该基因在本氏烟、大豆以及酵母 3 种不同物种的体内进行表达,结果发现,该基因编码的蛋

白均可抑制由 Bax 诱导的细胞死亡(BT-PCD),推测该基因抑制 Bax 诱导的细胞死亡的作用机制可能在所有真核生物中是相同的。后续研究发现^[32],除 *Avr1b-1* 外,其它与无毒蛋白结构相类似的基因 *Avr* homology (*Avh*)效应基因 *Avh331* 对 BT-PCD 同样具有强烈的抑制作用。

1.2 *H. arabidopsis* 效应基因 *ATR1*、*ATR13* 以及 *P. infestans* 效应基因 *Avr3a* 具有抑制 PTI 的功能

PTI 是植物在应对病原菌突破基础防卫反应后出现的,其触发因子为 PAMP,研究发现,病原菌中存在大量 PAMP。INF1 来自于 *P. infestans*,可调控烟草对 *P. infestans* 的非寄主抗性^[33],其作为一种疫霉 PAMP,可以触发植物产生 PTI,在本氏烟上产生 HR^[34]。

H. arabidopsis 效应基因 *ATR1* 和 *ATR13* 可以引发含有基因 *RPP1-Nd/WsB* 和 *RPP13-Nd* 拟南芥所介导的抗性。Sohn 等^[35]利用 *Pseudomonas syringae* DC3000(*Pst*)的 T3SS,将 *ATR1* 和 *ATR13* 基因的表达产物,输送到含相应抗性基因的拟南芥细胞中,可以引发 HR。同时,来自于不同病原菌小种的 *ATR1* 和 *ATR13* 可以提高 *Pst* 在感病拟南芥上的毒性,如 *ATR13*^{Emoy2/Emco5}、*ATR1*^{Emoy2/Cala2} 有助于 *Pst* 在植物组织中进一步繁殖,增加其致病性,而前者还具有抑制细菌 flg22(*Pst* 的一种 PAMP)引发胼胝质沉积的功能。

此外,*P. infestans* 的效应基因 *Avr3a* 所编码的氨基酸序列存在 AVR3a^{KI} 和 AVR3a^{EM} 2 种形式,而二者的差别仅是第 80 位的 K(赖氨酸)与 E(谷氨酸)以及第 103 位的 I(异亮氨酸)与 M(蛋氨酸),尽管如此,Bos 等^[36]发现 AVR3a^{KI} 仅可以抑制由 INF1 引发的烟草 HR,而不能抑制其它 PAMP(CRN2 和 PiNPP1.1)引发的 HR,而 AVR3a^{EM} 对上述 PAMP 均没有任何作用。通过对 K、E 等氨基酸位点进行“点突变”研究,发现 AVR3a^{KI} 中的 K 决定着其与植物抗性蛋白 R3a 的相互识别,同时发现 147 位 Y(酪氨酸)决定着其抑制 INF1 引发的 HR 功能,因此,推测 *P. infestans* 效应基因在与植物抗性基因相互识别方面,以及效应基因抑制 INF1 引发的 HR 方面,可能是通过与不同受体结合或是不同信号转导途径实现的^[37]。

1.3 *P. infestans* 效应基因 *IPI-O1* 和 *IPI-O4* 的功能

一般而言,病原菌的效应基因所编码的蛋白可以与寄主植物的抗性蛋白相互识别,因此,利用马铃薯不同抗性品种,可以较好地从中筛选与其抗性基因对应的效应基因^[24]。前期研究发现,马铃薯野生种 *Solanum bulbocastanum* 含有抗性基因 *RB*,可以抵抗 *P. infestans* 的大多数小种的侵染,故认为含有该基因的

铃薯品种具有广谱抗性^[38-39]。

此外,还发现 *P. infestans* 中效应分子 IPI-O1 可以在 *S. bulbocastanum*、*S. stoloniferum* 和 *S. papita* 等马铃薯上引发 HR,而效应分子 IPI-O4 则不能。利用农杆菌介导的病毒表达系统,在非转基因 RB 的本氏烟上表达效应基因 IPI-O1,并未产生 HR;而在转基因 RB 的本氏烟上表达该基因,则产生 HR;将 IPI-O1 和 IPI-O4 同时表达,发现后者具有抑制前者产生的 HR 的功能,而 IPI-O4 则不能抑制 INF1 产生的 HR^[40],表明 IPI-O4 具有抑制 ETI 的功能,而不具有抑制 PTI 的功能。进一步的研究也发现,IPI-O4 抑制 IPI-O1 发生在细胞质中,其抑制作用为不影响 IPI-O1 的表达和运输,推测其可能是通过阻碍 IPI-O1 与 RB 的识别而实现抑制功能^[40]。

1.4 RxLR 效应基因协同作用调控植物的防卫反应

生物信息学分析发现,已经完成测序的植物病原卵菌 *P. sojae*、*P. infestans*、*P. ramorum* 基因组中广泛分布着 Avh 效应基因(含有保守 RxLR 基序)。这些 RxLR 效应基因在病原菌致病过程中,如何发挥作用,如何破坏植物的防卫反应,或者如何共同发挥用来抵御植物的防卫反应,是学术界比较关注的问题之一。

2011 年,Wang 等^[41]利用 PVX 介导的农杆菌表达技术,在模式植物本氏烟上对 *P. sojae* 中 170 个效应基因进行功能分析,结果显示有 126 个基因能够不同程度的抑制 BT-PCD,所占比例高达 75%,同时,效应基因表达一段时间(24 h)后,有 105 个能够完全抑制 BT-PCD,所占比例为 62%;此外,基于 MicroArray 数据,利用 filter 工具对 *P. sojae* 的效应基因进行了转录组水平分析,共筛选出侵染前期诱导表达的效应基因 20 个,并根据其表达丰度和转录模式不同,将其划分为侵染前期表达量持续较高类型(Immediate-Early, IE)和侵染早期上调表达(Early, E)类型,前者主要功能在于防止某些 E 类效应分子高度表达触发植物免疫反应,抑制 ETI,后者则能够广泛抑制各种激发子包括 PAMP 触发的植物 PCD。

另外,Zigzag 理论认为介于 PTI 和 ETI 以及 ETI 和 ETI 之间还涉及效应分子引发的感病反应(Effector-triggered susceptibility, ETS)^[10]。研究发现,*P. sojae* 在侵染过程中,IE 类效应基因 Avh172 表达量一直较高,可以抑制 E 类效应基因 Avh238 引发的 ETS,同时,将二者共同表达,还可以抑制由 INF1、MAPK 作用在烟草上引发的免疫反应,表明上述 2 类效应分子能够协同合作抑制植物的防卫反应。上述试验结果表明,植物病原卵菌可以通过 RxLR 效应基因的程式化转录和功能互补协同操纵植物防卫反应的 PTI 和 ETI 2 个不同层面,进一步证明 Zigzag 理论也适用于解释植物病原卵菌和植物

的互动关系。

1.5 RxLR 效应基因具有诱导烟草、大豆不同植物细胞死亡的功能

在植物病原卵菌侵染寄主植物过程中,依据植物的状态划分为活体和死体 2 个营养阶段,其生活方式多属于半活体营养寄生。在不同时期,病原卵菌操控植物防卫反应的方式有所不同,即当植物自身产生 HR 反应用于限制病原菌侵染、扩展时,病原菌为了其进一步生长发育,利用抑制植物 HR 反应策略,保证植物处于活体状态;反之,当病原菌生长发育到一定阶段,其也会产生促进植物死亡的策略,造成植物死亡。

在对 *P. sojae* 中 RxLR 效应基因功能进行分析时,发现有 11 个可以在本氏烟上引起不同程度的细胞死亡,其发生症状有所区别,其中 Avh18、Avh25、Avh105、Avh147、Avh238 以及 Avh241 能引起接种区域出现典型的 HR,其它诸如 Avh163、Avh181、Avh232、Avh365、Avh378 则表现为不连续的小型坏死斑或黄化褪绿等状况^[42];另外,利用粒子轰击法对上述 11 个效应基因在大豆叶片上表达分析,发现除 Avh163 之外均能够引起不同程度的细胞死亡^[43]。值得一提的是,后续开展的研究,证实 Avh18 具有通过抑制小 RNA 的生物合成来实现抑制植物的 RNA 沉默的功能^[43]。上述研究结果表明植物病原卵菌效应基因具有诱导烟草、大豆等不同属植物细胞死亡的功能,这一类效应基因是否是病原菌操控寄主植物发生死亡的原因有待于进一步深入研究,同时,鉴于其造成的表型不尽相同,推测不同的效应基因在诱导细胞死亡的作用机制以及作用的信号通路方面存在较大的差异。

2 植物病原卵菌 RxLR 效应基因的功能冗余性

在研究植物病原细菌与拟南芥互作过程中发现,拟南芥 Col-0 生态型中存在 125 个 R 基因,但与其发生作用的植物病原细菌中效应基因数量较少,估计可能不足 30 个^[10]。然而,植物病原卵菌 *P. sojae*、*P. infestans*、*P. ramorum*、*H. arabidopsis* 基因组中均含有数百个 RxLR 效应基因^[3-4,44-45]。与植物病原细菌相比,卵菌中存在如此众多的效应基因,推测这些基因具有功能冗余性特点,即多个效应基因可能拥有相同的功能来操控一个寄主靶标;或者可能是效应基因彼此存在不同的功能,而共同与一个寄主靶标协同进化。

此外,卵菌 RxLR 效应基因包含有多个与其进化相关的假基因,其存在的众多数量也揭示了效应基因具有潜在冗余性特点^[45],深入解析效应基因彼此之间存在的功能冗余性现象,将有助于理解卵菌的致病机制,同时,为未来生产上开发持久控制病原菌的化学药剂提供重

要的理论依据。

目前,基因沉默是探索功能冗余的方法之一,即采用双链 RNA(ds RNA)介导的瞬时基因沉默技术,该技术由于不要求对遗传性状实现稳定的转化,故其具有稳定转化所不能比拟的优点,现已成功地应用于开展致病疫霉等植物病原卵菌基因功能的研究上^[46-47]。韩长志^[48]利用 ds RNA 对 *P. sojae* 效应基因 *Avh38* 和 *Avh283* 分别进行瞬时基因沉默,将转化子的菌丝块及游动孢子分别接种大豆黄化苗进行试验,结果表明二者对游动孢子的趋化性以及致病性均没有明显影响,同时结合其前期研究结果,认为效应基因 *Avh38* 和 *Avh283* 在功能上具有冗余性。因此,通过利用 ds RNA 技术开展植物病原卵菌效应基因的功能研究,可以根据所获得转化子具有的共同表型,从而有助于对具有功能冗余性特点的效应基因实现快速分类、鉴定;同时,深入开展对效应基因所共同作用的寄主植物靶标蛋白的研究,也将为进一步揭示效应基因所具有的功能冗余性提供重要的试验佐证。

3 植物病原卵菌 RxLR 效应基因中保守基序的转运功能

卵菌效应基因中的 RxLR 基序与疟原虫(*Plasmodium falciparum*)效应基因中的 RXLXE/D/Q 基序在结构上相类似^[49],其编码的氨基酸序列中,N 末端具有保守的 RxLR 基序,而位于 RxLR 基序两侧的 30~60 个氨基酸具有显著的偏好性,研究发现,这部分区域具有分泌和转运效应分子的功能;而位于 C 末端区域的氨基酸变异性较大,尽管如此,后续研究发现该区域也具有一定的 W、Y、L 等保守域(WYL 分别为色氨酸、酪氨酸、亮氨酸)。尽管 RxLR 基序对于卵菌效应分子实现转运功能是必要的,但仅仅依靠该基序并不能完成全部转运功能,尚需要位于其两翼的氨基酸序列共同作用从而完成全部转运功能^[45,50-51]。

P. infestans 效应蛋白 AVR3a 中的 RxLR-EER 基序(E,谷氨酸),包含大约 30 个氨基酸,该基序对于将效应蛋白 AVR3a 转运到寄主植物体内是必需的^[44],同时,通过对该区域进行氨基酸序列替换研究,发现该区域对于马铃薯抗性蛋白 R3a 的识别也是必需的^[50]。另外,发现表达包含信号肽、AVR3a 以及 GUS(SP-RxLR-EER::GUS)的 *P. infestans* 转化菌株可在植物细胞中观察到 GUS 活性,而在使用丙氨酸替换相应基序(SP-AAAA-AAA::GUS)却未能在植物细胞中观察到 GUS 活性^[25];Western 印迹结果也显示在已侵染的植物细胞中可以检测到 RxLR-EER-GUS 蛋白,这表明 RxLR-EER 转运基序在将效应分子运输到寄主细胞内之前是完整的、不会

被分割的。同理,将该保守基序与绿色荧光蛋白 GFP 融合,在 *P. falciparum* 中进行表达、转运,发现该基序具有将 GFP 转运到红血球内的作用^[18]。反证试验表明,使用来自于 *P. falciparum* 的效应分子 PfHRP2 中的具有转运功能的 33 个氨基酸(含有 HT 信号核心 RLLHE)替换 AVR3a 的 RxLR-EER 区域,同样可以将来自于 *P. infestans* 的 AVR3a 转运到马铃薯细胞内。上述研究表明,与动物病原疟原虫相似,植物病原卵菌中同样也具有将效应分子转运到植物细胞的保守基序,这些基序在功能上是等同的^[18]。同样,*P. sojae* 的效应分子中具有 RxLR 基序与 *P. falciparum* 具有的 RxLx(E/Q)拥有同样的功能^[32]。因此,植物和动物真核病原微生物具有相似的信号序列,其在不同的病原菌系统中存在的转运机制模式可能具有共同的特征,从而实现效应分子转运到寄主细胞内的目的^[51]。

目前,尽管与效应分子进入寄主细胞的内吞作用相关的植物蛋白尚未明确,但是根据已经注释的、结合 RxLR 基序的植物蛋白多与细胞膜相关等特点,推测卵菌 RxLR 效应分子可能通过寄主内吞作用实现转运功能^[9]。值得一提的是,现已证明存在于 *P. sojae*、*P. falciparum* 以及亚麻锈菌中的效应分子可以通过与磷脂酰肌醇结合而介导病原菌进入寄主细胞^[52],然而,对于其它病原菌中存在的效应分子是否也是利用内吞作用进入寄主尚需要更多试验证据,另外,植物病原卵菌效应分子是否通过与其他植物蛋白结合而介导病原菌进入寄主细胞有待于进一步研究。

4 展望

植物具有多层次的防御机制,面对病原菌的侵染,植物会激活相应层次的免疫防卫反应,以阻止病原菌的进一步扩展,从而有利于植物的正常生长发育;同时,病原菌也会根据植物的“反应”进一步调整其侵染策略,以便能够更好的侵入植物、获得营养。

对植物病原卵菌基因组序列进行生物信息学分析及功能预测,并结合生物学试验的进一步验证,极大地推动了对效应基因的研究工作。目前,对卵菌基因功能研究多采用干扰基因表达、缺失特定基因以及促使基因表达等方法^[53]。随着对卵菌研究技术的不断完善和创新,今后开展效应基因功能对研究将更加快捷、有效,同时,一些危害农林业经济生产重要的植物病原卵菌橡树疫霉(*P. ramorum*)、樟疫霉(*P. cinnamom*)、辣椒疫霉(*P. capsici*)全基因组测序工作的逐渐完成,对其 RxLR 效应基因开展功能研究,为进一步明确其具有的抑制 BT-PCD、抑制 PTI、ETI 功能以及诱导细胞死亡、协同作用调控植物防卫反应等功能提供更多的试验数据,也为进

一步明确效应基因的功能冗余性和多样性特点提供更多的试验佐证。

参考文献

- [1] Latijnhouwers M, de Wit P J, Govers F. Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants[J]. Trends Microbiology, 2003(11): 462-469.
- [2] Van West P, Appiah A A, Gow N A R. Advances in research on oomycete root pathogens[J]. Physiology Molecular Plant Pathology, 2003, 62: 99-113.
- [3] Tyler B M, Tripathy S, Zhang X, et al. Phytophthora genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis [J]. Science, 2006, 313(5791): 1261-1266.
- [4] Haas B J, Kamoun S, Zody M C, et al. Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* [J]. Nature, 2009, 461(7262): 393-398.
- [5] Baxter L, Tripathy S, Ishaque N, et al. Signatures of adaptation to obligate biotrophy in the *Hyaloperonospora arabidopsidis* genome [J]. Science, 2010, 330(6010): 1549-1551.
- [6] Lévesque C A, Brouwer H, Cano L, et al. Genome sequence of the necrotrophic plant pathogen *Pythium ultimum* reveals original pathogenicity mechanisms and effector repertoire [J]. Genome Biology, 2010, 11(7): R73.
- [7] Tian M, Win J, Savory E, et al. 454 genome sequencing of *Pseudoperonospora cubensis* reveals effector proteins with a putative QXLR translocation motif [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2011, 24(5): 543-553.
- [8] 顾彪. 植物病原卵菌和真菌效应蛋白转运机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [9] Birch P R J, Boevink P C, Gilroy E M, et al. Oomycete RxLR effectors: delivery, functional redundancy and durable disease resistance [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2008(11): 373-379.
- [10] Jones J D, Dangl J L. The plant immune system [J]. Nature, 2006, 444: 323-329.
- [11] 董莎萌. 大豆疫霉无毒基因基因组结构特征的研究及其应用[D]. 南京: 南京农业大学, 2008.
- [12] Shan W, Cao M, Leung D, et al. The *Avr1b* locus of *Phytophthora sojae* encodes an elicitor and a regulator required for avirulence on soybean plants carrying resistance gene *Rps1b* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2004, 17: 394-403.
- [13] Qutob D, Tedman-Jones J, Dong S, et al. *Phytophthora sojae* avirulence gene *Avr3a* encodes an RxLR effector protein [J]. PLoS ONE, 2009, 4(5): 5556.
- [14] Dong S M, Yin W X, Kong G H, et al. *Phytophthora sojae* avirulence effector *Avr3b* is a secreted NADH and ADP-ribose pyrophosphorylase that modulates plant immunity [J]. PLoS Pathogens, 2011, 7(11): 23-53.
- [15] Dong S M, Qutob D, Tedman-Jones J, et al. The *Phytophthora sojae* avirulence locus *Avr3c* encodes a multi-copy RXLR effector with sequence polymorphisms among pathogen strains [J]. PLoS ONE, 2009, 4(5): 55-56.
- [16] Dong S M, Yu D, Cui L K, et al. Sequence variants of the *Phytophthora sojae* RXLR effector *Avr3a/5* are differentially recognized by *Rps3a* and *Rps5* in soybean [J]. PLoS ONE, 2011, 6(7): 20172.
- [17] Dou D L, Kale S D, Liu T L, et al. Different domains of *Phytophthora sojae* effector *Avr4/6* are recognized by soybean resistance genes *Rps4* and *Rps6* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2010, 23(4): 425-435.
- [18] Rehmany A P, Gordon A, Rose L E, et al. Differential recognition of highly divergent downy mildew avirulence gene alleles by *RPP1* resistance genes from two *Arabidopsis* lines [J]. Plant Cell, 2005(7): 1839-1850.
- [19] Allen R L, Bittner-Eddy P D, Grenville-Briggs L J, et al. Host-parasite coevolutionary conflict between *Arabidopsis* and downy mildew [J]. Science, 2004, 306: 1957-1960.
- [20] Bailey K, Cevik V, Holton N, et al. Molecular cloning of *ATR5Emoy2* from *Hyaloperonospora arabidopsidis*, an avirulence determinant that triggers RPP5-mediated defense in *Arabidopsis* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2011, 24(7): 827-838.
- [21] Goritschnig S, Krasileva K V, Dahlbeck D, et al. Computational prediction and molecular characterization of an Oomycete effector and the cognate *arabidopsis* resistance gene [J]. PLoS Genetic, 2012, 8(2): 1-12.
- [22] Armstrong M R, Whisson S C, Pritchard L, et al. An ancestral Oomycete locus contains late blight avirulence gene *Avr3a*, encoding a protein that is recognised in the host cytoplasm [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 7766-7771.
- [23] Van Poppel P M J A, Guo J, van de Vondervoort P J I, et al. The *Phytophthora infestans* avirulence gene *Avr4* encodes an RxLR-dEER effector [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2008, 21(11): 1460-1470.
- [24] Vleeshouwers V G A A, Rietman H, Krennek P, et al. Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes [J]. PLoS ONE, 2008, 3(8): 2875.
- [25] Oh S K, Young C, Lee M, et al. In planta expression screens of *Phytophthora infestans* RXLR effectors reveal diverse phenotypes, including activation of the *Solanum bulbocastanum* disease resistance protein Rpi-blb2 [J]. Plant Cell, 2009, 21(9): 2928-2947.
- [26] Vleeshouwers V G, Raffaele S, Vossen J H, et al. Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors [J]. Annual Review of Phytopathology, 2011, 49: 507-531.
- [27] Hiss J A, Przyborski J M, Schwarte F, et al. The *Plasmodium* export element revisited [J]. PLoS ONE, 2008, 3(2): 1560.
- [28] Wastie R L. Breeding for resistance. In advances in plant pathology vol. 7: *Phytophthora infestans*, the cause of late blight of potato [M]. Edited by Ingram D S, Williams P H. London, UK: Academic Press, 1991, 193-223.
- [29] Lacomme C, Santa C S. Bax-induced cell death in tobacco is similar to the hypersensitive response [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96: 7956-7961.
- [30] Kawai-Yamada M, Jin L, Yoshinaga K, et al. Mammalian Bax-induced plant cell death can be down regulated by over-expression of *Arabidopsis* *Bax Inhibitor-1* (*AtBI-1*) [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98: 12295-12300.
- [31] Dou D L, Kale S D, Wang X L, et al. Conserved C-terminal motifs required for avirulence and suppression of cell death by *Phytophthora sojae* effector *Avr1b* [J]. Plant Cell, 2008, 20: 1118-1133.
- [32] Dou D L, Kale S D, Wang X, et al. RxLR-mediated entry of *Phytophthora sojae* effector *Avr1b* into soybean cells does not require pathogen-encoded machinery [J]. Plant Cell, 2008, 20: 1930-1947.
- [33] Kamoun S, van West P, Vleeshouwers V G A A, et al. Resistance of *Nicotiana benthamiana* to *Phytophthora infestans* is mediated by the recognition of the elicitor protein INF1 [J]. Plant Cell, 1998(10): 1413-1426.
- [34] Asai S, Ohta K, Yoshioka H. MAPK signaling regulates nitric oxide and NADPH oxidase-dependent oxidative bursts in *Nicotiana benthamiana* [J]. Plant Cell, 2008(20): 1390-1406.

- [35] Sohn K H, Lei R, Nemri, et al. The downy mildew effector proteins ATR1 and ATR13 promote disease susceptibility in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell, 2007(19):4077-4090.
- [36] Bos J I, Kanneganti T D, Young C, et al. The C-terminal half of *Phytophthora infestans* RxLR effector AVR3a is sufficient to trigger R3a-mediated hypersensitivity and suppress INF1-induced cell death in *Nicotiana benthamiana* [J]. Plant Journal, 2006, 48:165-176.
- [37] Bos J I, Chaparro-Garcia A, Quesada-Ocampo L M, et al. Distinct amino acids of the *Phytophthora infestans* effector AVR3a condition activation of R3a hypersensitivity and suppression of cell death [J]. Molecular Plant-Microbe Interact, 2009, 22:269-281.
- [38] Song J, Bradeen J M, Naess S K, et al. Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100:9128-9133.
- [39] Van de Vossen E, Sikkema A, Hekkert B L, et al. An ancient *R* gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato [J]. Plant Journal, 2003, 36:867-882.
- [40] Halterman D A, Chen Y, Sopee J, et al. Competition between *Phytophthora infestans* effectors leads to increased aggressiveness on plants containing broad-spectrum late blight resistance [J]. PLoS ONE, 2010, 5(5):10536.
- [41] Wang Q Q, Han C Z, Ferreira A O, et al. Transcriptional programming and functional interactions within the *Phytophthora sojae* RXLR effector repertoire [J]. Plant Cell, 2011(23):2064-2086.
- [42] 王群青. RxLR 效应分子协同互作控制大豆疫霉对寄主侵染过程 [D]. 南京:南京农业大学, 2010.
- [43] Qiao Y L, Liu L, Xiong Q, et al. Oomycete pathogens encode RNA silencing suppressors [J]. Nature Genetics, 2013, 45:330-333.
- [44] Whisson S C, Boevink P C, Moleleki L, et al. A translocation signal for delivery of Oomycete effector proteins inside host plant cells [J]. Nature, 2007, 450:115-118.
- [45] Win J, Morgan W, Bos J, et al. Adaptive evolution has targeted the C-terminal domain of the RxLR effectors of plant pathogenic Oomycetes [J]. Plant Cell, 2007(19):2349-2369.
- [46] Whisson S C, Avrova A O, van West P, et al. A method for dsRNA mediated transient gene silencing in *Phytophthora infestans* [J]. Molecular Plant Pathology, 2005(6):153-163.
- [47] Grenville-Briggs L J, Anderson V L, Fugelstad J, et al. Cellulose synthesis in *Phytophthora infestans* is required for normal asporangium formation and successful infection of potato [J]. Plant Cell, 2008(20):720-738.
- [48] 韩长志. 大豆疫霉效应分子的功能研究 [D]. 南京:南京农业大学, 2010.
- [49] Hiller N L, Bhattacharjee S, van Ooij C, et al. A host-targeting signal in virulence proteins reveals a secretome in malarial infection [J]. Science, 2004, 306:1934-1937.
- [50] Bhattacharjee S, Hiller N L, Liolios K, et al. The malarial host-targeting signal is conserved in the Irish potato famine pathogen [J]. PLoS Pathogens, 2006, 2(e50):453-465.
- [51] Nunes M C, Goldring J P, Doerig C, et al. A novel protein kinase family in *Plasmodium falciparum* is differentially transcribed and secreted to various cellular compartments of the host cell [J]. Molecular Microbiology, 2007, 63:39-43.
- [52] Kale S D, Gu B, Capelluto D G S, et al. External lipid PI3P mediates entry of eukaryotic pathogen effectors into plant and animal host cells [J]. Cell, 2010, 142(2):284-295.
- [53] 陈孝仁, 王源超. 卵菌基因功能分析方法的研究进展 [J]. 农业生物技术学报, 2012, 20(5):568-575.

Research Advance on Functional Effect of Gene Plant Pathogenic Oomycete

HAN Chang-zhi

(College of Forestry, Southwest Forestry University, The Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650224)

Abstract: Plant pathogens oomycete, including *Phytophthora infestans*, *P. sojae*, *P. ramorum*, *P. cinnamom* and *Hyaloperonospora arabidopsis*, etc., its interaction with the host in accordance with Zigzag theory. The theory is that pathogens to manipulate host plant defense responses, some of secretion and translocation of effector molecules were transhipped into plant cells, thereby inhibiting the PTI, while the plant defense genes identified pathogen effector molecules get activated, triggering ETI, with the pathogen and plant interaction similar to the "arms race" of escalating achieve pathogen coevolution of plants and genetically. Oomycete genome contains hundreds of highly differentiated RxLR effector of genes, now in terms of functional diversity, redundancy, and transport mechanisms of gene function were reviewed in this paper, in order to further research the mechanism for the transfer of effector proteins toxic functions, and extensive research carried out on plant pathogenic oomycetes pathogenic mechanism provides an important theoretical basis.

Key words: plant pathogenic oomycete; effector gene; PTI; ETI; functional redundancy; Zigzag theory