

· 植物免疫与抗病性 ·

## 作物疫病菌致病机制研究进展与面临的挑战

王 燕 王晓莉 王源超\*

南京农业大学 植物保护学院, 南京 210095

**[摘要]** 疫霉菌引起的植物疫病是农业生产上的毁灭性病害,其在田间具有发病快、危害重的特点,防控非常困难。本文梳理了近几年来疫霉菌与植物互作方面的研究进展,指出了疫霉菌分泌的效应子在激活植物免疫与攻击植物免疫中发挥的关键作用,建议今后研究应结合我们丰富的病原菌遗传变异材料和物种资源,围绕植物先天免疫系统识别疫霉菌的分子机制及疫霉菌与多种生物和非生物因子互作机制等方面展开。

**[关键词]** 作物疫病;致病机制;效应子;免疫识别

作物疫病是农业生产上的毁灭性病害,严重威胁着全球的生态和粮食安全,每年导致我国大豆、马铃薯和蔬菜等作物的经济损失高达数百亿元。作物疫病的致病菌是疫霉菌(*Phytophthora* spp.),隶属于茸鞭生物界(Chromista)卵菌门(Oomycetes)<sup>[1]</sup>。其在形态特征与生活方式上与真菌界(Fungi)的丝状真菌类似,但在细胞壁组成、繁殖方式、致病过程等方面与真菌差异较大。疫霉菌在田间变异快、遗传多样性高,导致抗药性强、作物抗性易丧失等严重问题,病害防控非常困难。由于疫霉菌基因组结构复杂、遗传操作相对困难等特点,导致对其致病机理的研究一直比较滞后。近些年来,基因组/转录组测序、生物信息学及分子生物学的快速发展极大地推动了疫霉菌与植物互作的研究。研究者摸清了部分重要疫霉菌的群体变异规律,揭示了其致害机理及寄主的免疫识别机制。这些研究进展对指导抗病品种布局、开发疫病防控新策略具有重要意义。

### 1 疫霉菌效应子的种类

效应子是疫霉菌攻击植物免疫的关键武器。疫霉菌在侵染过程中分泌大量的效应子来干扰植物的抗性反应。这些效应子蛋白作用于植物的不同亚细胞空间,包括质外体、细胞膜、细胞质和细胞核等。

目前多种疫霉菌包括大豆疫霉(*Phytophthora sojae*)、橡树疫霉(*Phytophthora ramorum*)、致病疫



**王源超** 南京农业大学植病系教授,长江学者特聘教授,国家杰出青年科学基金获得者,入选中组部“万人计划”。现为国家大豆产业技术岗位科学家、国际卵菌分子遗传委员会执委、中国植病学会卵菌专业委员会主任。长期开展大豆病害成灾机理与控制技术研究,主持国家自然科学基金、国家重点研发计划等项目20余项,以通讯作者在 *Science*、*Plant Cell* 等期刊发表论文150余篇,获授权专利十余项、省部级以上科技奖励6项。



**王燕** 2014年于荷兰瓦赫宁根大学植物病理系获得博士学位,2015年加入南京农业大学作物疫病团队,从事植物对疫病菌先天免疫机制的研究。主持国家自然科学基金青年项目和面上项目各一项,江苏省杰出青年基金一项。以第一作者在 *Nature Communications*、*Annual Review of Microbiology* 等期刊发表论文10余篇。

霉(*Phytophthora infestans*)、荔枝霜疫霉(*Phytophthora lichi*)、辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)等的基因组已经被测序公布。生物信息学分析发现疫霉菌基因组编码数百个含有信号肽的蛋白,这些蛋白统称为效应子(Effectors)。根据分泌蛋白在寄主植物体内发挥功能的亚细胞定位,疫霉菌的分泌蛋白被分为质外体效应子和胞内效应子。质外体效应子是疫霉菌分泌的、在植物质外体发挥作用的致病因子,主要

包括激发子 (Elicitins)、坏死和乙烯诱导蛋白 (Necrosis and Ethylene-Inducing Peptide 1-like Protein, NLPs)、PcF/SCR (Small Cysteine-Rich) 蛋白、CBEL (Cellulose Binding Elicitor Lectin) 蛋白、细胞壁水解酶、蛋白酶抑制子等。胞内效应子是疫霉菌在侵染过程中分泌到植物细胞内发挥作用的致病因子, 主要包括 RXLR 类效应子和 CRN (Crinkling and Necrosis) 类效应子。其中, RXLR 类效应子 N-端具有保守的 RXLR (R: 精氨酸; X: 任意氨基酸; L: 亮氨酸) 结构基序, 引导效应子进入植物细胞内; C-端通常含有 WY 结构域, 决定效应子的生物学功能<sup>[2]</sup>。大多数 CRN 类效应子 N-端含有 2 个高度保守的 FLAK (F: 苯丙氨酸; L: 亮氨酸; A: 丙氨酸; K: 赖氨酸) 与 HVLVVVP (H: 组氨酸; V: 缬氨酸; L: 亮氨酸; P: 脯氨酸) 基序<sup>[3]</sup>。其中 FLAK 基序对该类效应子被转运进入寄主植物细胞是必须的<sup>[3]</sup>。疫霉菌基因组含有大量编码 RXLR 和 CRN 类效应子的基因。其中, 大豆疫霉菌基因组编码 400 多个 RXLR 类效应子和 200 多个 CRN 类效应子<sup>[4]</sup>; 致病疫霉菌基因组编码 560 多个 RXLR 类效应子和近 200 个 CRN 类效应子<sup>[5]</sup>。RXLR 类效应子是卵菌特有的效应子, 真菌中也发现了类似的分泌蛋白, 但其 RXLR 基序非典型, 是 RxLx、RxxR 等变异形式<sup>[6]</sup>。

## 2 植物识别疫霉菌效应子的机制

与动物一样, 植物也具有自身的先天免疫系统, 通过识别疫霉菌的侵染激活植物先天免疫。植物先天免疫的激活一般包括免疫识别、信号传递和启动抗性反应三个环节。其中植物对疫霉菌的识别是抗性激活的基础。近年来, 研究发现植物对疫霉菌的抗性依赖两大类免疫识别受体, 包括细胞膜表面的模式识别受体 (Pattern Recognition Receptor, PRRs) 和胞内免疫识别受体 (Nucleotide-Binding Domain and Leucine-Rich-Repeat-Containing Proteins, NLRs)。植物通过受体识别生存环境中的病原菌, 启动多重抗性反应。

### 2.1 植物细胞膜受体识别疫霉菌效应子的机制

植物细胞膜表面的模式识别受体 (Pattern Recognition Receptors, PRRs) 利用胞外结构域识别病原菌模式分子, 包括病原菌的结构组分或分泌到植物质外体的效应子蛋白等, 激活植物的基础抗性 (Pattern-Triggered Immunity, PTI)。目前研究发现, 多个疫霉菌的质外体效应子可被植物细胞膜受

体蛋白识别触发抗性反应。

#### (1) NLPs 类效应子的识别机制

坏死和乙烯诱导蛋白 (NLPs) 类效应子是疫霉菌等卵菌、真菌、细菌中广泛存在的一类外泌蛋白。Bailey 于 1995 年首次报道在镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 外泌液中鉴定到这类蛋白<sup>[7]</sup>。由于其能诱导植物乙烯合成和强烈的细胞坏死反应, 因此被命名为坏死和乙烯诱导蛋白。不同病原菌中的 NLPs 虽然进化不同, 但是序列非常保守<sup>[8]</sup>。Oome 等通过对来自 150 多个细菌、真菌和卵菌中的 NLPs 的进化分析, 将该家族效应子分为三种不同类型<sup>[9]</sup>。其中, 在疫霉菌和其它卵菌中仅鉴定到 I 型的 NLP 类效应子, 该类效应子的 N 端含有两个保守的半胱氨酸。作为一类多物种中保守的效应子, I 型的 NLPs 类效应子含有一个由 20 个氨基酸组成的保守短肽 nlp20, 能够被拟南芥等十字花科植物识别, 激活 MAPK 磷酸化、活性氧爆发、胼胝体沉积、乙烯合成及植保素 camalexin 合成等一系列抗性反应<sup>[10]</sup>。nlp20 可被拟南芥的细胞膜富含亮氨酸重复序列 (LRR) 的受体蛋白 RLP23 识别, 诱导 RLP23 与下游受体蛋白激酶 BAK1 和 SOBIR1 结合进行免疫信号传递<sup>[11]</sup>。虽然只有十字花科植物可以识别 NLP 类效应子的保守短肽 nlp20, 但是将拟南芥中识别 nlp20 的受体 RLP23 在马铃薯中表达能显著提高其对致病疫霉菌的抗性, 表明 RLP23 可通过转基因的方式引入至不同植物中, 并发挥对 NLPs 类致病因子识别, 从而提高植物对疫霉菌的抗性。

#### (2) 激发子类效应子的识别机制

激发子是疫霉菌分泌的一类能诱导植物细胞坏死和抗性反应的质外体效应子, 在序列上均包含一个保守的激发子结构域<sup>[12]</sup>。目前已鉴定出多个疫霉菌的激发子类效应子, 包括致病疫霉菌 INF1 激发子、棉疫霉 PB90 激发子、大豆疫霉菌富含脯氨酸的激发子类 Soj6<sup>[13-15]</sup>。除了 INF1 及同源蛋白以外, 目前植物识别大部分激发子的机制尚不清楚。最早在致病疫霉菌中鉴定到的激发子 INF1<sup>[15]</sup> 在不同疫霉菌中都有同源蛋白。INF1 可被烟草识别诱导活性氧迸发及细胞坏死等反应。通过遗传筛选, 发现 INF1 可被野生型马铃薯品种 mcd360-1 识别, 诱导细胞坏死反应<sup>[16]</sup>。图位克隆鉴定到一个含有 36 个 LRR 重复序列的细胞膜受体蛋白 ELR 与此性状有关。ELR 可识别不同疫霉菌分泌的 INF1 同源蛋白, 通过结合蛋白激酶 BAK1 和 SOBIR1 进行免疫信号传递<sup>[16, 17]</sup>。过表达 ELR 显著增强马铃薯对晚疫病菌

的抗性<sup>[16]</sup>。

### (3) 糖基水解酶类效应子的识别机制

GH12 糖基水解酶是疫霉菌、真菌和细菌中广泛存在的一类分泌蛋白<sup>[18]</sup>。疫霉菌分泌的 XEG1 及多个 GH12 糖基水解酶类效应子可被烟草、大豆等识别,诱导植物细胞产生坏死,及活性氧迸发、细胞壁沉积物累积等一系列抗性反应。XEG1 具有木葡聚糖酶的水解活性。但研究发现失去了酶活性的 XEG1 依然可以触发植物的抗性反应及细胞坏死,表明 XEG1 触发被植物识别诱导的细胞坏死等反应不依赖其水解酶活性<sup>[18]</sup>。植物对不同疫病菌和真菌分泌的 XEG1 等 GH12 糖基水解酶类效应子的识别都依赖于细胞膜上的免疫识别受体 RXEG1<sup>[19]</sup>。过表达 RXEG1 显著增强植物对 XEG1 的识别,从而产生更强的抗性反应以应对不同病原菌的侵染。生化分析发现,植物识别 XEG1 后,RXEG1 与细胞膜受体蛋白激酶 BAK1 和 SOBIR1 互作形成复合物传递免疫信号,激活下游抗性反应。

## 2.2 植物细胞内受体识别疫霉菌效应子的机制

植物利用细胞内免疫受体识别病原菌的效应子,触发强烈的抗性反应,产生病原菌特异性抗性,即 ETI (Effector-Triggered Immunity)。Flor 在上世纪 40 年代提出“基因对基因”假说,为现代植物免疫研究奠定了基础。迄今已被证明植物抗病基因 (Resistance Gene, *R*) 产物与病原菌无毒基因 (Avirulence Gene, *avr*) 产物的识别关系广泛存在于植物与不同疫霉菌的互作中。目前疫霉菌中鉴定到的无毒基因均编码 RXLR 类效应子。在大豆疫霉和致病疫霉与寄主植物的互作中,已经发现多个抗病基因编码胞内免疫受体通过识别疫霉菌的 RXLR 类效应子<sup>[20]</sup>,激活植物 ETI。已成功克隆的抗病基因均编码 NLR 类蛋白,其含有一个 N-端的 coiled-coiled (CC) 或 Toll/Interleukin (TIR) 结构域。在植物与疫霉菌互作研究中发现有些效应子可同时被多个不同的免疫受体识别,激活植物抗性。例如,大豆疫霉效应子 PsAvr3a/5 可同时被大豆的 Rps3a 和 Rps5 识别,PsAvr4/6 可被大豆 Rps4 和 Rps6 识别,Avr1b 可被大豆 Rps1b 和 Rps1k 识别<sup>[21-23]</sup>。这种现象在致病疫霉与寄主马铃薯的互作中也存在。例如,致病疫霉效应子 AVR2 可被马铃薯的免疫受体 R2 或 Rpi-mcq 识别诱导细胞坏死<sup>[24]</sup>。这些研究为改造免疫识别受体、提高受体识别效应子的广谱性和对病原菌的广谱抗性提供了研究思路。

## 3 疫霉菌致病因子抑制植物免疫的作用机制

### 3.1 质外体效应子的作用机制

质外体是植物与疫霉菌互作的一个重要场所。疫霉菌侵染过程中,分泌大量的效应子进入植物质外体。目前疫霉菌中研究比较清楚的质外体致病因子包括坏死和乙烯诱导蛋白 (NLPs)、蛋白酶抑制子和糖基水解酶类效应子等。

#### (1) NLPs 类效应子的作用机制

除了激活植物免疫以外,NLPs 类效应子也是多种病原菌分泌的一类重要的致病因子。大部分 NLPs 类效应子可在拟南芥、欧芹等双子叶植物中诱导细胞坏死,却不能在单子叶植物中诱导细胞坏死。研究发现 NLPs 类效应子诱导双子叶植物细胞坏死的功能与其被植物识别无关,而与其毒性功能相关<sup>[25]</sup>。NLPs 效应子的二级结构包含一个中央的  $\beta$  折叠及周围环绕的  $\alpha$  螺旋和无规则卷曲。结构生物学分析显示该类蛋白与海葵放线菌素具有结构相似性<sup>[26]</sup>。海葵放线菌素可以结合后生动物的脂质结合,是一种导致细胞膜穿孔的毒素。受此研究启发,Lenarčič T 等通过筛选植物中 NLPs 类蛋白结合的鞘脂,发现双子叶植物的糖基肌醇磷酸神经酰胺 (Glycosylinositol Phosphorylceramide, GIPC) 鞘脂是 NLPs 类毒素的受体<sup>[27]</sup>。NLP 类蛋白与 GIPC 的末端单体己糖结合,导致 NLP 毒素的构象变化,诱导双子叶植物细胞死亡。单子叶植物通过 GIPC 的变异逃避了 NLP 类毒素的结合。该研究揭示了植物鞘脂的特异性决定了 NLP 毒素的选择性。

#### (2) 蛋白酶抑制子类效应子的作用机制

疫霉菌侵染过程中分泌多种蛋白酶抑制子,作用于植物质外体中具有抗性功能的蛋白。例如,大豆分泌的葡聚糖内切酶 EGaseA 可以降解大豆疫霉细胞壁,产生具有激发子活性的葡聚糖寡糖,诱导植物免疫反应。然而,大豆疫霉菌分泌的葡聚糖酶抑制蛋白 PsGIP1,能特异性地结合并抑制大豆 EGaseA,抑制其降解大豆疫霉细胞壁产生葡聚糖寡糖的功能,进而抑制植物免疫<sup>[28]</sup>。此外,致病疫霉分泌多种半胱氨酸蛋白酶抑制子,包括 EPIC1、EPIC2A 和 EPIC2B,可以特异性地结合番茄中具有抗病功能的半胱氨酸蛋白酶 RCR3、PIP1 或 C14,抑制其活性<sup>[29, 30]</sup>。不同疫霉菌中编码的具有序列多态性的 EPIC1 抑制子与寄主半胱氨酸蛋白酶的特



异性互作影响了病原菌的寄主范围。例如致病疫霉与姐妹种 *Phytophthora mirabilis* 中的 EPIC1 相比第 111 位氨基酸位点上的谷氨酰胺/精氨酸突变导致其能更强地抑制马铃薯中的蛋白酶 RCR3<sup>[31]</sup>。此外,致病疫霉分泌的含有 Kazal 功能域的抑制子蛋白 EPI1 和 EPI10,具有很强的丝氨酸蛋白酶抑制活性,可特异结合并抑制番茄丝氨酸蛋白酶 P69B 的活性<sup>[32-34]</sup>。综上表明,疫霉菌通过分泌蛋白酶抑制子抑制寄主蛋白酶活性是一种重要的致病机制。

### (3) 糖基水解酶类效应子的作用机制

PsXEG1 是大豆疫霉菌侵染早期分泌到植物体外的一类效应子<sup>[18]</sup>。PsXEG1 属于微生物中广泛分布的糖基水解酶 12 家族(GH12),具有木葡聚糖酶和  $\beta$  葡聚糖酶的活性。PsXEG1 可以通过降解植物细胞壁促进疫霉菌的侵染。PsXEG1 可以被大豆质外体抑制子 GmGIP1 结合,导致其水解酶活性受到抑制,从而使其毒性功能受到抑制<sup>[35]</sup>。然而,疫霉菌进化出了 PsXEG1 的同源效应子 PsXLP1。由于 PsXLP1 在酶活位点区域序列缺失,导致其不具有木葡聚糖水解酶活性,但 PsXLP1 对抑制子 GmGIP1 的结合能力更强。PsXEG1 和 PsXLP1 对于疫霉菌的致病性都是必须的,但是 PsXLP1 自身不具有毒性功能,其促进疫霉菌侵染的功能严格依赖 PsXEG1。该研究揭示了疫霉菌分泌效应子 PsXLP1 以“诱饵”的方式,竞争性结合抑制子 GmGIP1,“掩护”PsXEG1 对植物的“攻击”。这种“诱饵模式”分别在大豆疫霉和烟草疫霉与寄主的互作中得到证实。由于“XEG1-XLP-GIP1”在不同病原菌-寄主植物互作体系中都是保守存在的,表明“诱饵模式”代表了一种全新的有害生物致病机制。

## 3.2 胞内致病因子的作用机制

疫霉菌胞内致病因子的研究目前主要集中在 RXLR 和 CRN 两大类效应子及一个通过非典型途径分泌的效应子 PsIsc1。来自美国、欧洲和我国的研究团队先后对致病疫霉、大豆疫霉菌和辣椒疫霉等的 30 多个胞内效应子进行了功能解析,发现这些效应子在植物的免疫识别、信号转导和抗性反应启动等多个环节攻击植物的免疫系统。效应子作用机制的研究对我们深入了解病原菌致病机制,开发疫病防控策略具有重要指导意义。

### (1) 效应子抑制植物对疫霉菌的免疫识别

近些年的研究发现,疫霉菌中可被植物胞内免

疫受体识别诱导抗性的无毒基因编码的都是 RXLR 效应子。由于植物免疫系统对 RXLR 效应子的识别,在基因水平上形成了进化的正向选择压力。RXLR 家族基因的序列多态性远高于基因组的整体水平,部分位点受到强烈的正向选择作用<sup>[31, 34]</sup>。群体遗传学分析发现,RXLR 效应子变异快,可以通过结构域的缺失或获得、基因沉默以及点突变等方式逃避寄主免疫受体的识别。最新研究发现表观遗传也是调控疫霉菌 RXLR 效应子变异的一种方式<sup>[36]</sup>。大豆疫霉菌中 H3K27 甲基化特异性富集造成 RXLR 效应子 Avr1b 的沉默,使其逃避大豆免疫受体 Rps1b 的识别,从而造成品种抗性丧失<sup>[36]</sup>。此外,疫霉菌分泌胞内效应子干扰寄主对效应子的识别<sup>[37]</sup>。例如,致病疫霉分泌 IPI-O4 效应子结合免疫识别受体 Rpi-blb1,抑制其对效应子 IPI-O1 识别所诱导的细胞坏死<sup>[38]</sup>。

### (2) 效应子抑制植物免疫信号的传递过程

活性氧作为一种重要的信号分子在植物抗性反应中发挥着重要作用。研究发现疫霉菌分泌不同的效应子靶向植物活性氧的产生和信号传递途径。例如,大豆疫霉分泌的 RXLR 效应子 PsAv3b 编码一个 Nudix 水解酶,被植物 cyclophilin 蛋白 GmCYP1 激活后,抑制病原菌侵染过程中寄主植物活性氧迸发,从而发挥毒性功能<sup>[39, 40]</sup>。此外,大豆疫霉还分泌一对序列同源的 CRN 效应子 PsCRN63 和 PsCRN115,通过与植物过氧化氢酶互作,调控过氧化氢酶蛋白定位或蛋白稳定性实现对植物活性氧的调控<sup>[41]</sup>。疫霉分泌的保守效应子 Avr3a 通过结合和稳定植物免疫负调控因子 CAD7,抑制植物响应病原菌模式分子诱导的活性氧等抗性反应<sup>[42]</sup>。MAPK 级联反应对免疫信号的传递具有重要作用。目前在致病疫霉中发现 RXLR 效应子 Pi17316 和 PexRD2 分别通过结合马铃薯 StVIK 和烟草 MAPKKK $\epsilon$  来干扰植物免疫<sup>[43, 44]</sup>。水杨酸和乙烯是植物抗性反应中的重要信号分子。大豆疫霉的一个非典型分泌的效应子异分支酸酶 PsIsc1 可水解异分支酸,降低水杨酸的合成以抑制其诱导的抗性反应<sup>[45]</sup>。此外,大豆疫霉的 RXLR 效应子 PsAvh238 通过干扰乙烯前体合成酶 ACC 的稳定性抑制乙烯诱导的大豆抗性<sup>[46]</sup>。

干扰免疫相关基因表达调控也是疫霉菌抑制植物抗性的一个重要作用方式。大豆疫霉分泌的 CRN 效应子 PsCRN108 通过竞争结合热激蛋白启动子来抑制多个热激蛋白基因的表达<sup>[47]</sup>。大豆疫

霉 RXLR 的效应子 PsAvh23 和 PsAvh52 通过表观遗传机制调控免疫相关基因的表达。PsAvh23 结合大豆乙酰化酶复合体 SAGA 的 ADA2 亚基, 干扰 GCN5 催化亚基乙酰化组蛋白 H3K9 以抑制抗病基因的表达<sup>[48]</sup>。相反, PsAvh52 通过改变大豆组蛋白乙酰转移酶 GmTAP1 的定位, 使植物组蛋白 H2A 及 H3 的激活位点乙酰化, 诱导大豆感病基因的表达<sup>[49]</sup>。此外, 大豆疫霉效应子 PsAvr3c 通过结合可变剪切复合体亚基 GmSKRPs, 重塑免疫相关基因的表达, 促进疫霉菌侵染<sup>[50]</sup>。

### (3) 效应子抑制植物抗性反应

细胞坏死是植物抵御病原菌侵染的一个重要反应。系统分析大豆疫霉和致病疫霉分泌的 RXLR 效应子, 发现大量的效应子能够抑制植物识别疫霉菌质外体效应子 INF1 或 XEG1 诱导的细胞坏死<sup>[18, 37, 51]</sup>。其中, 致病疫霉 RXLR 效应子 PiAVR3a 通过结合并稳定 E3 泛素连接酶 CMPG1 以抑制 INF1 诱导的细胞坏死<sup>[52]</sup>。马铃薯 RXLR 效应子 Pi02860 通过与 E3 泛素连接酶组分 StNRL1 的互作以降解鸟嘌呤核苷酸交换因子 SWAP70, 从而抑制 INF1 诱导的细胞坏死<sup>[53]</sup>。

疫霉菌效应子通过靶向植物蛋白分泌系统以抑制免疫相关蛋白的分泌。例如, 致病疫霉的 RXLR 效应子 PiAVR1 和甘蓝疫霉的效应子 PbRxLR24 分别通过靶标 Exocyst 的关键组分 Sec5 或 RABA GTP 酶来干扰抗病相关蛋白 PR1 或 PDF1.2 的外泌<sup>[54, 55]</sup>。此外, RXLR 效应子通过结合植物关键免疫元件影响其外泌到质外体发挥抗性作用。例如, 致病疫霉 RXLR 效应子 PiAVRblb2 通过结合番茄半胱氨酸蛋白酶 C14 抑制其外泌到质外体发挥抗病功能<sup>[56]</sup>。同样, 大豆疫霉效应子 PsAvh240 结合天冬氨酸蛋白酶 GmAP1 阻止其外泌, 从而抑制大豆的抗性<sup>[57]</sup>。内源小 RNAs 在植物抗病中也发挥重要作用。大豆疫霉 RXLR 效应子 PsPSR1 和 PsPSR2 通过干扰植物小 RNA 的合成促进疫霉菌的侵染。其中 PsPSR1 与 RNA 解旋酶 PINP1 互作, 调控 miRNAs 和 siRNAs 的累积<sup>[58, 59]</sup>。然而, PsPSR2 通过与双链 RNA 结合蛋白 DRB4 的结合, 特异性地抑制 secondary siRNAs 累积<sup>[60]</sup>。研究发现植物外泌体中 siRNA 能够跨物种运输进入疫霉菌, 抑制疫霉菌的生长和致病性。然而, 效应子 PsPSR2 降低了植物外泌体中 siRNAs 的积累, 抑制了植物外泌体中 siRNAs 的跨物种的转运。

## 4 疫霉菌与植物互作研究中的关键科学问题与建议

### 4.1 疫霉菌致病因子的转运机制

疫霉菌在致病过程中分泌大量效应子破坏植物的抗病性, 而在长期的共进化过程中植物又能通过免疫受体识别特定效应子产生抗性, 因此, 效应子是疫霉菌致病和植物抗病的关键因素。效应子研究工作中的一个重要科学问题是效应子如何被病原菌分泌进入寄主细胞发挥毒性功能? 目前对 RXLR 类效应子转运机制的研究取得了一定的进展。Kale SD 等通过对大豆疫霉效应子 Avr1b 的研究发现其依赖 RXLR 基序结合寄主细胞膜表面的 3-磷酸磷脂酰肌 (Phosphatidylinositol-3-Phosphate, PI3P), 并以 PI3P 为受体通过脂筏介导的内吞作用进入寄主细胞<sup>[61]</sup>。这种转运机制目前尚存在争议, 并且 CRN 类效应子及非典型分泌效应子的转运机制尚不清楚, 因此亟需加强对该方面的研究。摸清疫霉菌效应子转运机制, 将对开发新的药物靶标、指导设计阻断致病因子转运的作物疫病防控策略具有重要意义。

### 4.2 不同病原菌与疫霉菌的复合侵染机制

在田间, 作物病害通常由多种病原菌复合侵染造成。以大豆根茎腐病为例, 利用环介导等温扩增 (Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP) 技术在发病大豆根部除了能检测到大豆疫霉菌以外, 还能检测到镰孢菌、立枯丝核菌等其它类型的病原菌。目前, 对不同类病原菌之间如何“互惠”(即互相促进侵染) 和如何“挟制”(即竞争生态位的作用机制) 缺乏了解。希望今后加强对不同病原菌互作的研究, 解析田间病原菌复合侵染机制, 为多种重要病害的综合防控提供理论支撑。

### 4.3 环境因子影响作物疫病爆发成灾的机理

自然生态系统是一个多生态因子互作的复杂系统。在细菌与植物的互作研究中, 发现丁香假单胞杆菌效应子通过改变寄主体内的水环境促进对寄主植物的侵染<sup>[62]</sup>。此外, 目前已确定多种环境生物和非生物因素对疫病及多种重要病害的爆发流行具有重要的影响<sup>[63, 64]</sup>, 但是对其具体作用机制的研究十分有限。今后需要加强对疫霉菌—寄主—环境之间多元互作的分子基础研究, 鼓励多学科交叉, 推动对疫病防控新策略的研发。

### 4.4 重构免疫系统, 提高作物广谱抗性

在田间, 抗性丧失是抗病品种利用中存在的一

个瓶颈问题。田间有害生物种类多、变异快,单一作物品种携带的抗性很难对不同的有害生物同时有效,广谱抗性和持久抗性难以形成。与模式植物相比,作物的免疫系统更复杂,研究基础更薄弱。因此,加强对重要农作物免疫系统形成机制的研究将有力地推动作物免疫技术的创新。此外,我国物种资源丰富,如何有效地开发和利用我国大量野生植物资源中广谱抗性基因,利用基因编辑技术精准改造作物免疫关键元件,加快重大病害抗病分子育种进程也是亟需关注的重要问题。

## 5 结 语

我国是一个农业生态环境脆弱、生物灾害频繁发生的农业大国。近年来,由于种植业结构调整和气候变化加剧,导致有害生物变异加快,我国作物疫病防控工作所面临的形势更加严峻。我国作物病害种类多,在有害生物致害成灾的研究方面对疫霉菌与其它病原菌的交叉互作以及生态因子对病害爆发流行的机制缺乏了解。在抗病资源利用方面,存在抗性资源缺乏、特别是具有自主知识产权的抗病基因、免疫受体资源缺乏等问题。建议今后研究应围绕上述科学问题,通过多学科交叉融合,获得一批具有重要意义的原创性研究成果,最终实现作物疫病的可持续防控。

## 参 考 文 献

- [1] Baldauf SL. The deep roots of eukaryotes. *Science*, 2003, 300(5626): 1703—1706.
- [2] Jiang RHY, Tripathy S, Govers F, et al. RXLR effector reservoir in two *Phytophthora* species is dominated by a single rapidly evolving superfamily with more than 700 members. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105 ( 12 ): 4874—4879.
- [3] Schornack S, van Damme M, Bozkurt TO, et al. Ancient class of translocated oomycete effectors targets the host nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 ( 40 ): 17421—17426.
- [4] Tyler BM, Tripathy S, Zhang XM, et al. *Phytophthora* genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis. *Science*, 2006, 313 (5791): 1261—1266.
- [5] Haas BJ, Kamoun S, Zody MC, et al. Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Nature*, 2009, 461(7262): 393—398.
- [6] Kale SD, Tyler BM. Entry of oomycete and fungal effectors into plant and animal host cells. *Cellular Microbiology*, 2011, 13(12): 1839—1848.
- [7] Bailey BA. Purification of a protein from culture filtrates of *Fusarium oxysporum* that induces ethylene and necrosis in leaves of *Erythroxylum coca*. *Phytopathology*, 1995, 85 (10): 1250—1255.
- [8] Kufner I, Ottmann C, Oecking C, et al. Cytolytic toxins as triggers of plant immune response. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, 4(10): 977—979.
- [9] Oome S, Van den Ackerveken G. Comparative and functional analysis of the widely occurring family of Nep1-like proteins. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2014, 27(10): 1081—1094.
- [10] Böhm H, Albert I, Oome S, et al. A conserved peptide pattern from a widespread microbial virulence factor triggers pattern-induced immunity in Arabidopsis. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(11): e1004491.
- [11] Albert I, Boehm H, Albert M, et al. An RLP23-SOBIR1-BAK1 complex mediates NLP-triggered immunity. *Nature Plants*, 2015, 1(10): 15140.
- [12] Derevnina L, Dagdas YF, De la Concepcion JC, et al. Nine things to know about elicitors. *New Phytologist*, 2016, 212 (4): 888—895.
- [13] Khatib M, Lafitte C, Esquerre-Tugaye MT, et al. The CBEL elicitor of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* activates defence in Arabidopsis thaliana via three different signalling pathways. *New Phytologist*, 2004, 162 ( 2 ): 501—510.
- [14] Wang YC, Hu DW, Zhang ZG, et al. Purification and immunocytolocalization of a novel *Phytophthora boehmeriae* protein inducing the hypersensitive response and systemic acquired resistance in tobacco and Chinese cabbage. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2003, 63(4): 223—232.
- [15] Kamoun S, van West P, Vleeshouwers VGAA, et al. Resistance of *Nicotiana benthamiana* to *Phytophthora infestans* is mediated by the recognition of the elicitor protein INF1. *Plant Cell*, 1998, 10(9): 1413—1425.
- [16] Du J, Verzaux E, Chaparro-Garcia A, et al. Elicitor recognition confers enhanced resistance to *Phytophthora infestans* in potato. *Nature Plants*, 2015, 1(4): 15034.
- [17] Domazakis E, Wouters D, Visser RGF, et al. The ELR-SOBIR1 complex functions as a two-component receptor-like kinase to mount defense against *Phytophthora infestans*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2018, 31 ( 8 ): 795—802.
- [18] Ma ZC, Song TQ, Zhu L, et al. A *Phytophthora sojae* glycoside hydrolase 12 protein is a major virulence factor during soybean infection and is recognized as a PAMP. *Plant Cell*, 2015, 27(7): 2057—2072.
- [19] Wang Y, Xu YP, Sun YJ, et al. Leucine-rich repeat receptor-like gene screen reveals that *Nicotiana glauca* RXEG1 regulates glycoside hydrolase 12 MAMP detection. *Nature Communications*, 2018, 9: 594.
- [20] Wang Y, Tyler BM, Wang YC. Defense and counterdefense during plant-pathogenic oomycete infection. *Annual Review of Microbiology*, 2019, 73: 667—696.



- [21] Dou DL, Kale SD, Liu TL, et al. Different domains of *Phytophthora sojae* effector Avr4/6 are recognized by soybean resistance genes Rps4 and Rps6. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, 23(4): 425—435.
- [22] Dong SM, Yu D, Cui LK, et al. Sequence variants of the *Phytophthora sojae* RXLR effector Avr3a/5 are differentially recognized by Rps3a and Rps5 in soybean. *PLoS One*, 2011, 6(7): e20172.
- [23] Song TQ, Kale SD, Arredondo FD, et al. Two RxLR avirulence genes in *Phytophthora sojae* determine soybean Rps1k-mediated disease resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013, 26(7): 711—720.
- [24] Aguilera-Galvez C, Champouret N, Rietman H, et al. Two different R gene loci co-evolved with Avr2 of *Phytophthora infestans* and confer distinct resistance specificities in potato. *Studies in Mycology*, 2018, 89: 105—115.
- [25] Fellbrich G, Romanski A, Varet A, et al. NPP1, a *Phytophthora*-associated trigger of plant defense in parsley and Arabidopsis. *Plant Journal*, 2002, 32(3): 375—390.
- [26] Ottmann C, Luberacki B, Kufner I, et al. A common toxin fold mediates microbial attack and plant defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(25): 10359—10364.
- [27] Lenarčič T, Albert I, Böhm H, et al. Eudicot plant-specific sphingolipids determine host selectivity of microbial NLP cytolytins. *Science*, 2017, 358(6369): 1431—1434.
- [28] Bishop JG, Ripoll DR, Bashir S, et al. Selection on Glycine beta-1, 3-endoglucanase genes differentially inhibited by a *Phytophthora* glucanase inhibitor protein. *Genetics*, 2005, 169(2): 1009—1019.
- [29] Song J, Win J, Tian MY, et al. Apoplastic effectors secreted by two unrelated eukaryotic plant pathogens target the tomato defense protease Rcr3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(5): 1654—1659.
- [30] Kaschani F, Shabab M, Bozkurt T, et al. An effector-targeted protease contributes to defense against *Phytophthora infestans* and is under diversifying selection in natural hosts. *Plant Physiology*, 2010, 154(4): 1794—1804.
- [31] Dong SM, Stam R, Cano LM, et al. Effector specialization in a lineage of the Irish Potato Famine pathogen. *Science*, 2014, 343(6170): 552—555.
- [32] Tian MY, Win J, Song J, et al. A *Phytophthora infestans* cystatin-like protein targets a novel tomato papain-like apoplastic protease. *Plant Physiology*, 2007, 143(1): 364—377.
- [33] Tian M, Huitema E, da Cunha L, et al. A Kazal-like extracellular serine protease inhibitor from *Phytophthora infestans* targets the tomato pathogenesis-related protease P69B. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(25): 26370—26377.
- [34] Tian MY, Benedetti B, Kamoun S. A second kazal-like protease inhibitor from *Phytophthora infestans* inhibits and interacts with the apoplastic pathogenesis-related protease P69B of tomato. *Plant Physiology*, 2005, 138(3): 1785—1793.
- [35] Ma ZC, Zhu L, Song TQ, et al. A paralogous decoy protects *Phytophthora sojae* apoplastic effector PsXEG1 from a host inhibitor. *Science*, 2017, 355(6326): 710—714.
- [36] Wang LY, Chen H, Li JJ, et al. Effector gene silencing mediated by histone methylation underpins host adaptation in an oomycete plant pathogen. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(4): 1790—1799.
- [37] Wang QQ, Han CZ, Ferreira AO, et al. Transcriptional programming and functional interactions within the *Phytophthora sojae* RXLR effector repertoire. *The Plant Cell*, 2011, 23(6): 2064—2086.
- [38] Chen Y, Liu ZY, Halterman DA. Molecular determinants of resistance activation and suppression by *Phytophthora infestans* effector IPI-O. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(3): e1002595.
- [39] Kong GH, Zhao Y, Jing MF, et al. The activation of *Phytophthora* effector Avr3b by plant cyclophilin is required for the nudix hydrolase activity of Avr3b. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(8): e1005139.
- [40] Dong SM, Yin WX, Kong GH, et al. *Phytophthora sojae* avirulence effector Avr3b is a secreted NADH and ADP-ribose pyrophosphorylase that modulates plant immunity. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(11): e1002353.
- [41] Zhang MX, Li Q, Liu TL, et al. Two cytoplasmic effectors of *Phytophthora sojae* regulate plant cell death via interactions with plant catalases. *Plant Physiology*, 2015, 167(1): 164—175.
- [42] Li TT, Wang QH, Feng RR, et al. Negative regulators of plant immunity derived from cinnamyl alcohol dehydrogenases are targeted by multiple *Phytophthora* Avr3a-like effectors. *New Phytologist*, 2019: doi.org/10.1111/nph.16139.
- [43] Murphy F, He Q, Armstrong M, et al. The potato MAP3K StVIK is required for the *Phytophthora infestans* RXLR effector Pi17316 to promote disease. *Plant Physiology*, 2018, 177(1): 398—410.
- [44] King SRF, McLellan H, Boevink PC, et al. *Phytophthora infestans* RXLR effector PexRD2 interacts with host MAPKKKε to suppress plant immune signaling. *Plant Cell*, 2014, 26(3): 1345—1359.
- [45] Liu TL, Song TQ, Zhang X, et al. Unconventionally secreted effectors of two filamentous pathogens target plant salicylate biosynthesis. *Nature Communications*, 2014, 5: 4686.
- [46] Yang B, Wang YY, Guo BD, et al. The *Phytophthora sojae* RXLR effector Avh238 destabilizes soybean Type2 GmACCS to suppress ethylene biosynthesis and promote infection. *The New Phytologist*, 2018, 222(1): 425—437.
- [47] Song TQ, Ma ZC, Shen DY, et al. An oomycete CRN effector reprograms expression of plant HSP genes by targeting their promoters. *PLoS Pathogens*, 2016, 11(12): e1005348.
- [48] Kong L, Qiu XF, Kang JG, et al. A *Phytophthora* effector manipulates host histone acetylation and reprograms defense gene expression to promote infection. *Current Biology*, 2017, 27(7): 981—991.

- [49] Li HY, Wang HN, Jing MF, et al. A *Phytophthora* effector recruits a host cytoplasmic transacetylase into nuclear speckles to enhance plant susceptibility. *Elife*, 2018, 7: e40039.
- [50] Huang J, Gu LF, Zhang Y, et al. An oomycete plant pathogen reprograms host pre-mRNA splicing to subvert immunity. *Nature Communications*, 2017, 8: 2051.
- [51] Oh SK, Young C, Lee M, et al. *In Planta* expression screens of *Phytophthora infestans* RXLR effectors reveal diverse phenotypes, including activation of the *Solanum tuberosum* disease resistance protein Rpi-blb2. *Plant Cell*, 2009, 21(9): 2928—2947.
- [52] Bos JIB, Armstrong MR, Gilroy EM, et al. *Phytophthora infestans* effector AVR3a is essential for virulence and manipulates plant immunity by stabilizing host E3 ligase CMPG1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(21): 9909—9914.
- [53] He Q, Naqvi S, McLellan H, et al. Plant pathogen effector utilizes host susceptibility factor NRL1 to degrade the immune regulator SWAP70. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(33): E7834—E7843.
- [54] Tomczynska I, Stumpe M, Mauch F. A conserved RxLR effector interacts with host RABA-type GTPases to inhibit vesicle-mediated secretion of antimicrobial proteins. *Plant Journal*, 2018, 95(2): 187—203.
- [55] Du Y, Mpina MH, Birch PRJ, et al. *Phytophthora infestans* RXLR effector AVR1 interacts with exocyst component Sec5 to manipulate plant immunity. *Plant Physiology*, 2015, 169(3): 1975—1990.
- [56] Bozkurt TO, Schornack S, Win J, et al. *Phytophthora infestans* effector AVRblb2 prevents secretion of a plant immune protease at the haustorial interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(51): 20832—20837.
- [57] Guo BD, Wang HN, Yang B, et al. *Phytophthora sojae* effector PsAvh240 inhibits a host aspartic protease secretion to promote infection. *Molecular Plant*, 2019, 12(4): 552—564.
- [58] Qiao YL, Shi JX, Zhai Y, et al. *Phytophthora* effector targets a novel component of small RNA pathway in plants to promote infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(18): 5850—5855.
- [59] Qiao YL, Liu L, Xiong Q, et al. Oomycete pathogens encode RNA silencing suppressors. *Nature Genetics*, 2013, 45(3): 330—333.
- [60] Hou YN, Zhai Y, Feng L, et al. A *Phytophthora* effector suppresses trans-kingdom RNAi to promote disease susceptibility. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(1): 153—165.
- [61] Kale SD, Gu B, Capelluto DGS, et al. External lipid PI3P mediates entry of eukaryotic pathogen effectors into plant and animal host cells. *Cell*, 2010, 142(6): 981—981.
- [62] Xin XF, Nomura K, Aung K, et al. Bacteria establish an aqueous living space in plants crucial for virulence. *Nature*, 2016, 539(7630): 524—529.
- [63] Wang XF, Wei Z, Yang KM, et al. Phage combination therapies for bacterial wilt disease in tomato. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(12): 1513—1520.
- [64] Yang HJ, Ma JX, Rong ZY, et al. Wheat straw return influences nitrogen-cycling and pathogen associated soil microbiota in a wheat-soybean rotation system. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1811.

## Sustainable Control of *Phytophthora* Diseases: Progress and Challenge

Wang Yan      Wang Xiaoli      Wang Yuanchao\*

College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095

**Abstract** Diseases caused by *Phytophthora* pathogens are devastating on many crops. Disease management is yet a continuous challenge since *Phytophthora* pathogens are fast-evolving and emerged rapidly to cause severe diseases. Here, we summarized the current knowledges and challenges on *Phytophthora*-plant interactions, and discussed the importance of multi-disciplinary research on the bio-interactions among various microbes and plant innate immunity for sustainable disease control.

**Keywords** plant diseases; virulence factors; genetic diversity; broad-spectrum resistance

(责任编辑 张强 吴妹)

\* Corresponding Author, Email: wangyc@njau.edu.cn