

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201503031

汪和贵,孙晓棠,郑兴汶,等. 生物源蛋白激发子的研究进展[J]. 广西植物, 2016, 36(4):413-418

WANG HG, SUN XT, ZHENG XW, et al. Research progress of biological protein elicitor[J]. *Guihaia*, 2016, 36(4):413-418

生物源蛋白激发子的研究进展

汪和贵¹, 孙晓棠¹, 郑兴汶², 崔汝强^{1*}

(1. 江西农业大学 农学院, 南昌 330045; 2. 江西广昌白莲产业发展局, 江西 广昌 344900)

摘要: 生物源蛋白激发子是一类能诱导植物产生防卫反应的特殊化合物, 主要来源于病原微生物、其他微生物及寄主植物或由寄主-病原物互作后产生。病原微生物或其他微生物产生的激发子包括真菌的 β -葡聚糖、糖蛋白、脂类物质和其他细胞壁组分; 由寄主植物产生的激发子主要是细胞壁组分中的寡糖物质, 如寡聚半乳糖醛酸和木聚糖片段; 寄主-病原物互作后产生的激发子主要是互作过程中酶对寄主和病原物细胞组分修饰后产生的。生物源蛋白激发子与寄主植物作用后, 通过一系列信号传导, 诱导寄主植物产生乙烯、植保素、水杨酸、茉莉酸、病程相关蛋白等, 导致植物中多种防卫反应的发生, 从而可以控制病害的发展和传播, 在农业生产上能够起到减少病虫危害达到增产的目的。近年来, 人们对激发子的研究非常广泛, 生物源蛋白激发子在生物防治中的作用也日益受到学者们的重视。该文就生物源蛋白激发子的种类: Harpin 蛋白、Nep1-like 蛋白家族、RXLR 蛋白家族、Elicitins 及其各类型激发子的功能、信号传导和作用机制的研究进展情况和在农业中的应用进行了综述, 并提出了生物源蛋白激发子将来在农业生产中对病害防治方面的展望。

关键词: 生物源激发子, 种类, 功能, 信号传导, 作用机制, 研究进展

中图分类号: Q945.8, S432.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)04-0413-06

Research progress of biological protein elicitor

WANG He-Gui¹, SUN Xiao-Tang¹, ZHENG Xing-Wen², CUI Ru-Qiang^{1*}

(1. College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Bureau of Lotus Industry Development Guangchang, Guangchang 344900, China)

Abstract: Biological source elicitor mainly comes from pathogenic microorganisms, other microorganisms, and host plants or produced by the host-pathogen interaction. The elicitor produced by the pathogenic microorganisms or other microorganisms including the fungal β -glucan, glycoprotein, lipid and other cell wall components. The elicitor produced by the host plants mainly oligosaccharide substance in the cell wall components, such as oligogalacturonide acid and xylan fragment, and the elicitor produced by the interaction of host and pathogen mainly for the enzyme for the host, and pathogens in the process of cell components after modification. After through a series of signal transduction, host plant was induced to produce ethylene, plant protection, salicylic acid, jasmonic acid and pathogenesis related protein, which led to a variety of defensive reaction in plants, so as to control the development and spread of the disease. It is helpful to reduce the diseases and insect pests in the production of plants to achieve the purpose of production. In the past few years, many people were in the elicitor research in a wide range. The function of biological source elicitor in the biological control also increasingly brought to the attention of scholars. Currently, they still insist on their own studies, and to-

收稿日期: 2015-04-21 修回日期: 2015-06-02

基金项目: 国家自然科学基金(31301620); 江西省科技支撑计划项目(20121BBF60049); 江西省自然科学基金(20151BAB204027) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(31301620); Key Technology Research and Development Program of Jiangxi(20121BBF60049); the Natural Science Foundation of Jiangxi(20151BAB204027)]。

作者简介: 汪和贵(1991-), 男, 江西婺源人, 硕士研究生, 主要从事植物病理学研究, (E-mail) heguiwang06@126.com。

* 通讯作者: 崔汝强, 博士, 副教授, 主要从事植物病理学研究, (E-mail) cuiruqiang@jxau.edu.cn。

wards to the deeper field, a lot of new scientists joined in this field. In this paper, research progress and application in agriculture were reviewed between the category of elicitor on biological, such as Harpin protein, Nep1-like protein, RXLR protein, Elicitins and so on, all these elicitors are employed directly or indirectly describe in this review. This review also highlights the integration of signaling pathways into or by transcription factors, as well as the linkage of the above signal components in elicitor signaling network through protein phosphorylation and dephosphorylation. Some perspectives on elicitor signal transduction are also presented. Cross talk between different functions is very common in different elicitors, which all act as a role of plant defense response. The mechanism of elicitors also mentioned in this review. And we have also proposed the use of biological protein elicitors for prevention and treatment of diseases in agricultural production in the future.

Key words: biological elicitor, category, function, action mechanism, action mechanism, research progress

激发子是一类能激活寄主植物产生防卫反应的特殊化合物,具有激发植物防御反应,诱导提高植物抗病性的功能。在寄主与病原互作中起着重要的作用,依照其来源不同可分为生物源激发子和非生物源激发子。依照其化合物性质不同可分为寡糖类激发子,糖蛋白激发子,及蛋白、多肽类激发子。最早在证明植物中激发子活性成分存在的实验是用菜豆茎片段接种健康茎片段后能导致健康茎片段植物保卫素积累。经鉴定这些具有激发子活性的是 α -1,4-半乳糖醛酸残基的线状寡聚体。通过几十年的研究,人们利用层析的方法分离不同成分的激发子,并在活体植物上接种鉴定是否能使植物产生过敏反应,并对纯化的激发子理化性质进行鉴定。研究证明,激发子能引起植物产生过敏反应,并可促使植物体内一系列抗病性激酶的活性增加。该文就生物源激发子进行详细的阐述。

生物源激发子主要来源于病原微生物、其他微生物及寄主植物或由寄主-病原物互作后产生。病原微生物或其他微生物产生的激发子包括真菌的 β -葡聚糖、糖蛋白、脂类物质和其他细胞壁组分;由寄主植物产生的激发子主要是细胞壁组分中的寡糖物质,如寡聚半乳糖醛酸和木聚糖片段;寄主-病原物互作后产生的激发子主要是互作过程中酶对寄主和病原物细胞组分修饰后产生的。

生物源激发子按照其性质不同主要有 Harpin 蛋白、Nep1-like 蛋白家族、RXLR 蛋白家族、Elicitins、Flagellin、寡糖类激发子、糖蛋白激发子、脂多糖激发子、无毒蛋白等。

1 Harpin 蛋白家族

Wei et al(1992)首次从梨火疫病(*Erwinia amylovora*)中分离出具有过敏反应活性的蛋白,并把它

命名为 Harpin。它是一种酸性、热稳定性、分子量约为 44 kD 的蛋白,可以使烟草产生过敏性反应。Harpin 均富含甘氨酸,缺少半胱氨酸,对蛋白酶 K 和紫外线敏感(Wei et al,1992)。由 Harpin 基因家族中的 hrpN 编码的膜蛋白 Harpin 在苹果火疫病病菌中发现(Wei & Beer,1996)。Sang et al(2012)利用水稻白叶枯病原菌激发子 Hpa1xoo 诱导到拟南芥产生 H_2O_2 和病原菌抗性,发现可能是非原质体上产生的 H_2O_2 与细胞参与病原物抗性产生了相对改变,这对随后 Hapin 生理和植物信号应答方面的研究产生了积极作用。Li et al(2013, 2014)通过研究分析得出 Hpa1 需要 N 端去促进 CO_2 在叶肉细胞中运输来增强叶片的光合作用和营养生长,随后证实乙烯和赤霉素共同调节 Hpa1 诱导促进植物生长和相关生理和分子反应。Hpa1 不仅在抗病方面有一定的防治作用,在抗虫上也能起到防御作用,尤其是蚜虫(Fu et al,2014)。Zhang et al(2011)利用 Hapin 编码的 *hrf1* 基因在水稻上过表达可诱导水稻产生抗旱能力,研究发现在水稻上编码过表达的 *hrf1* 基因可诱导 ABA(脱落酸)含量增加,促进气孔关闭,证实了 *hrf1* 基因在转基因作物上可增强抗旱性,推测 Harpins 可能在其他作物上也能产生抗旱性。Pradip et al(2014)从丁香假单胞菌中分离鉴定出来的 HrpZpss,并采用光谱学和微观的方法发现它的过敏性反应诱导 C 端的 214 个氨基酸片段(C-214-HrpZpss),并且 C-214-HrpZpss 和 HrpZpss 都形成低聚物,通过 DC,DSC 和荧光反应研究显示热诱导去展开这些蛋白质步骤多且非常复杂,此研究为今后对其他激发子的构像稳定性和获得最高展开温度的研究有一定的参考价值。

Harpin 蛋白的信号传导通路和作用机制主要是通过不同的激素信号途径去调节和产生防御。而最近几年的研究大多数集中在通过激活乙烯信号途径

来促进植物营养生长和抵抗病原物的侵袭,当然还有对赤霉素在信号通路上的研究(Lu et al, 2013; Li et al, 2014)。

2 Nep1-like 蛋白家族

Nep1-like 蛋白(NLPS)广泛分布在细菌、真菌和卵菌,尤其是植物病原物中。大小约为 25 kD (Pemberton & Salmond, 2004)。Nep1 蛋白最初是从尖孢镰刀菌的菌液中分离纯化出来的,大小为 24 kD (Bailey et al, 1997)。随后 NLPS 在芽孢杆菌(*Bacillus*)、欧文氏菌(*Erwinia*)、轮枝菌(*Verticillium*)腐霉属(*Pythium*)、疫霉属(*Phytophthora*)中先后被发现(Botella et al, 1998; Takami & Horikoshi, 2000; Fellbrich et al, 2002; Bell et al, 2004; Wang et al, 2004)。尽管它们存在不同系统中,NLPs 仍以高相似性与一些家族的成员有着较强的能力诱导 20 多种双子叶植物的细胞程序化死亡。Vilella et al (2014) 利用蛋白质组和代谢组学的方法用 Nep1-like 诱导本氏烟的细胞快速的蛋白质组和代谢组重编程,这个发现将对以后在植物上 NLP 介导的细胞死亡信号创建一个更广泛的认识。Oome 把 NLP 分成 4 个不同的类型,NLP 类型 1、类型 1a、NLP 类型 2、NLP 类型 3、NLP 类型 1 的特征是至少存在一个单一的保守二硫键,一个酸性结合阳离子键和一个暴露区;NLP 类型 1a 与类型 1 相反;NLP 类型 2 不仅有两个二硫键但更重要的是它有一个假定的钙结合区等同于类型 1 和 1a 的暴露区;不过目前对 NLP 类型 3 的知识能了解的还很少,基于它存在保守的半胱氨酸,所以作出预测大多数的 NLP 类型 3 含有三个二硫键(Oome et al, 2014)。在过去几年微生物基因组测序成为一个流行的研究方法,他们利用生物信息学的方法结合系统发育分析 NLP 家族对研究系统发育分布的多样性,蛋白质序列和 NLP 的功能起到一定作用。

植物的信号传导一般是从免疫反应开始,通过受体介导的检测异物分子在不同种类的微生物中守恒,包括致病性和非致病性的(Zamioudis & Pieterse, 2012)。Nep1-like 蛋白的多肽片段在三界中的不同微生物出现,Oome et al (2014) 发现它们在拟南芥中能引起免疫反应,并扮演着 MAMP (病原相关分子模式)的角色。对植物来说,MAMPs 引发基础的免疫反应,例如乙烯合成,活性氧的产生,抗

菌化合物的释放(Tsuda & Katagiri, 2010)和在某些条件下细胞程序性死亡(Thomma et al, 2011)。植物感染微生物的 MAMPs 已在细菌,真菌和卵菌中描述。

Nep1-like 蛋白家族诱导坏死的作用机制了解的很少,NLP 一般在双子叶植物上基于晶体结构分析和突变诱导免疫反应和细胞死亡,在过去它有被提及是 NLP 可作为溶细胞毒素诱导细胞质膜渗漏,因此引起细胞毒性作用(Ottmann et al, 2009; Santhanam et al, 2012)。单子叶植物的囊膜不是通透的,表明 NLP 的细胞毒性作用需要一个特定的双子叶植物的目的蛋白或膜结构。细胞毒活性表明这个蛋白能在植物的薄膜上形成一个孔,但是形成一个孔的证据还没有,以至于 NLP 的作用机制还是个未知数。

3 RXLR 蛋白家族

RXLR 蛋白家族的结构域对植物卵菌蛋白激发子具有种族特异性,随着对植物病原菌无毒基因的深入研究,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,无毒基因也被称为效应基因(顾彪等, 2012)。自从 2004 年首个卵菌效应基因被克隆出来,全部归类于 RXLR 效应基因家族。大豆疫霉菌中有 *PsAvr1b*、*PsAvr1k*、*PsAvr4*、*PsAvr6*、*PsAvr1a*、*PsAvr3a*、*PsAvr3c*、*PsAvr3b*;致病疫霉菌中有 *PiAvr3a*、*PiAvr4*、*PiAvr2*、*PiAvrblb1*、*PiAvrblb2*、*Avrnt1*;拟南芥霜霉菌中有 *ATR1*、*ATR13*、*ATR5*、*ATR39*(韩长志等, 2014)。在过去的十年里,很多 RXLR 效应蛋白被鉴定出来(Bozkurt et al, 2012)。霜霉菌产生的两种效应蛋白 *ATR1* 和 *ATR13*, *ATR1* 和 *ATR13* 都有一个 N 端信号肽和高度保守的 RXLR 氨基酸基序,这个序列编码一个精氨酸(R),一个随机氨基酸基序(X),一个亮氨酸(L)和一个精氨酸(R)。不同的卵菌均可产生该效应蛋白,表明该序列起着非常重要的功能。RXLR 有时伴随不保守的 dEER 基序,dEER 基序包含两个谷氨酸残基和一个精氨酸残基,在它之前还有一个天冬氨酸残基(Rehmany et al, 2005)。除了在卵菌中存在外,RXLR-like 基序已经在疟原虫(*Plasmodium species*)中发现,在疟原虫中这种基序被叫做 HT/

PEXEL 基序,并已证明 HT/PEXEL 在把蛋白质运输进宿主血细胞中是必不可少的(Hiler et al, 2004; Marti et al, 2004)。一些无毒和有毒功能的假定 RXLR 效应蛋白的筛选工作已经开启。对 169 个大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)的假定 RXLR 效应蛋白进行筛选发现大多数能够抑制细胞程序性死亡(Wang et al, 2011)。顾彪等(2012)对大豆疫霉菌 RXLR 效应蛋白功能分析,利用 Microarray 技术对大豆疫霉菌感染过程中 *Avh* 基因表达模式进行分析,发现了许多在疫霉菌感染早期特异表达的 *Avh* 基因。Cabral et al(2011)描述了活体营养型卵菌(*Hyaloperonospora arabidopsidis*)的 Waco9 接种拟南芥产生的 18 个 RXLR 包涵体蛋白,这些假定效应蛋白经 ESTs 鉴定得出是由感染了活体营养型卵菌(*Hyaloperonospora arabidopsidis*)菌株 Waco9 的高感拟南芥突变型 *Wseds1-1* 获得,表明了 RXLRs 的其中之一 RXLR29 在拟南芥上能够抑制 MTI,增强丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)的易感性。为了证实其他 RXLR 基因的潜在功能,Pei et al(2014)开始对 18 个 RXLR 基因中的 13 个进行密集筛选,并评估它们对寄主免疫的作用。转基因的拟南芥表达活体营养型卵菌(*H. arabidopsidis*)的 RXLR 基因能够产生和筛选增强其他病原物的易感性。此外, RXLR 表达水平检查改变 MTI 反应。而且他们还用了 EDV 系统开发细菌Ⅲ型分泌系统分泌蛋白进入寄主细胞,释放 RXLR 蛋白进入拟南芥叶细胞去证实选中的 RXLR 基因在抑制 MTI 活性(Pei et al, 2014)。

Kale et al 提出 RXLR 结构域结合磷脂酰肌醇-3-磷酸(PIP)和内吞作用。然而 Yaeno et al(2011)研究了 AVR3a 效应蛋白结合域的一个带正电荷的补丁而不是 RXLR 结合域,参与了 PIP 结合(Kale et al, 2010; tassen et al, 2011; Bozkurt et al, 2012)。因此, RXLR 确切的作用在蛋白质运输方面还不清楚。

Yu et al(2012)研究发现, RXLR 蛋白家族的作用机制是 RXLR 可以与植物细胞膜上的 PI3P 结合,协助效应分子进入寄主细胞内。并发现有一些效应分子能够在植物细胞内发挥毒性功能,抑制植物的免疫反应,帮助病原菌的侵染。

4 Elicitins

Elicitins 是一类由卵菌纲的疫霉属和腐霉属所分泌的分子量约为 10 kD 的蛋白激发子(Pernollet

et al, 1993),低浓度的 Elicitin 能够有效地诱导茄科、十字花科等多种植物产生过敏反应,并使植物获得系统抗病性。Elicitin 分为酸性 α -elicitins(等电点 pI 为 3~5)和碱性 β -elicitins(等电点 pI 为 8~10)两大类, β -elicitins 诱导烟草叶片产生 HR(过敏反应)的活性比 α -elicitins 诱导烟草叶片产生 HR 的活性要强(Kamoun et al, 1993; Pernollet et al, 1993; Kamoun, 2001)。 β -cinnamomin 是一个由疫霉菌(*Phytophthora cinnamomi*)分泌的 98 个氨基酸, 10 kD 的低分子量蛋白,有三个保守的二硫键。Hof-zumahaush & Schallmey(2013)首次报道了 Elicitin β -cinnamomin 在大肠杆菌中可溶性表达, β -cinnamomin 的产量得到显著提高。然后通过利用 C 端 His-tag, β -cinnamomin 纯化过程明显简化,仅用了一步亲和层析就可以使产生的蛋白质得到高纯度(>90%)。这个方案可以进一步成功的应用在其他 elicitin 的可溶性表达上。Liu et al(2015)研究发现辣椒疫霉 elicitin 家族成员 PcINF1 可通过与辣椒细胞膜上的含 C2 域的 SRC2-1 激活辣椒的过敏反应, SRC2-1 的沉默可以阻断 PcINF1 对辣椒过敏反应的激活效应, C2 域在 PcINF1/SRC2-1 结合及其激活过敏反应中起重要作用,且发现 PcINF1/SRC2-1 复合体由细胞质到细胞核的移动是其激活过敏反应所必不可少的。该研究首次发现含 C2 域的 Ca^{2+} 结合蛋白可充当 Elicitin 受体或受体复合体成员,在植物识别和结合 Elicitin 产生过敏反应中起重要作用,建立了 Elicitin 激活过敏反应与 Ca^{2+} 信号的分子联系。

Sasabe et al(2000)研究发现 Elicitins 的信号传导及作用机制,首先是 Elicitins 借助其 N 端的信号肽分泌到病原菌细胞外;然后在信号肽酶的作用下切除信号肽,激发细胞膜上的由糖蛋白和钙离子通道组成的受体,将信号传导到胞内,诱发磷酸化-去磷酸化级联反应,导致细胞膜去极化,氯离子和钾离子外流,钙离子内流,引起活性氧激发,并使细胞壁组分改变;最终引起植物叶片坏死和激活植物的系统获得抗性。

5 其他激发子

蛋白激发子 SsCut 来源于核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*), Zhang et al(2014)从核盘菌(*S. sclerotiorum*)中分离出分子量为 20.4 kD 的蛋白,可在烟草上引起过敏反应,重组的 SsCut 可导致拟南芥、

油菜、水稻、玉米、小麦细胞死亡,这些实验表明单子叶植物和双子叶植物对这种激发子都敏感。此外,还能诱导烟草中的过氧化氢酶、苯丙氨酸酶、多酚氧化酶增加,这些研究进一步说明了激发子 SsCut 在植物上可引起植物防卫反应,将来在阐明引起防卫反应与下游信号通路之间的联系能够起到帮助。

Zhang et al (2014)对先前鉴定的一个来源于葡萄孢菌(*B. cinerea*)的新蛋白激发子 PebC1 进行了进一步的研究,发现 PebC1 是一个新激发子能引起植物防卫反应,对真菌病原物产生抗性。接种 PebC1 的植物能诱导抗性至少存留 21 d,这表明 PebC1 是一个非常好的植物防卫激活剂。经 PebC1 处理后的植物通过激活防卫反应,包括胞外的 pH,活性氧和 NO 的产生,进而抑制病菌扩展。此外, PebC1 还可增强防御相关基因的表达。随后又在葡萄孢菌中分离了一个新的糖蛋白激发子 BcGs1 (Zhang et al, 2015)。

PeBL1, 一个新的蛋白激发子,来自侧孢短芽孢杆菌菌株 A60,在本氏烟上能产生典型的过敏反应和系统性抗性。在植物上接种能够产生大量的活性氧,细胞壁碱化,酚类物质层积和很多相关防御基因的表达,qRT-PCR 分析表明通过 PeBL1,防御相关基因 *PR-1*, *PR-5*, *PDF1.2*, *NPR* 和 *PAL* 都不同程度的上调(Wang et al, 2015)。

随着病原菌与植物互作的不断深入,在植物抗病方面,激发子广泛存在于植物中,能够对植物病害起到抵抗作用,有待我们进一步开发利用。

6 展望

生物源激发子来源于微生物、寄主植物或寄主—病原物互作产生,与寄主植物作用后,通过一系列信号传导诱导寄主植物产生乙烯、植保素、水杨酸、茉莉酸、病程相关蛋白,导致植物中多种防卫反应的发生,从而可以控制病害的发展和传播,在植物生产上能够起到减少病虫害达到增产的目的。近十年来,随着分子生物学及其他学科的发展,人们已从信号识别、信号转导和防卫基因表达调控 3 个关键环节上对诱导抗性机理获得深入的认识。生物激发子遵循植物—病原物互作的特定分子机制而诱导抗病性,它们参与上述 3 个关键环节的机理已从分子生物学上得到较好的阐释。我国微生物资源丰富,一种微生物中可能含有一到多个激发子,并且一种

激发子可让多个寄主植物产生防卫反应。这为我们在筛选激发子方面提供了一个很大的资源库,通过科研工作者的努力在不久的将来激发子将会作为生物农药,发挥着巨大的潜力。

参考文献:

- BAILEY B, JENNINGS J, ANDERSON J, 1997. The 24-kDa protein from *Fusarium oxysporum* sp. *erythroxyli*: occurrence in related fungi and the effect of growth medium on its production [J]. *Can J Microbiol*, 43(1): 45–55.
- BELL K, SEBAIHIA M, PRITCHARD L, et al, 2004. Genome sequence of the enterobacterial phytopathogen *Erwinia carotovora* sub sp. *atroseptica* and characterization of virulence factors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101(30): 11 105–11 110.
- BOTELLA M, PARKER J, FROST L, et al, 1998. Three genes of the *Arabidopsis* *RPP1* complex resistance locus recognize distinct *Peronospora parasitica* avirulence determinants [J]. *Plant Cell*, 10(11): 1 847–1 860.
- BOZKURT TO, SCHORNACK S, BANFIELD MJ, et al, 2012. Oomycetes, effectors, and all that jazz [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 15(4): 483–492.
- CABRAL A, STASSEN J, SEIDL M, et al, 2011. Identification of *Hyaloperonospora arabidopsidis* transcript sequences expressed during infection reveals isolate-specific effectors [J]. *PLoS ONE*, 6(5): 19 328.
- FABRITIUS A, CVITANICH C, JUDELSON H, 2002. Stage-specific gene expression during sexual development in *Phytophthora infestans* [J]. *Mol Microbiol*, 45(4): 1 057–1 066.
- FU M, DONG H, ZHANG C, et al, 2014. Transgenic expression of a functional fragment of harpin protein Hpa1 in wheat induces the phloem-based defence against English grain aphid [J]. *J Exp Bot*, 65(6): 1 439–1 453.
- GU B, 2012. The translocation machinery analysis of oomycete and fungal effectors [D]. Yangling: Northwest Agriculture & Forestry University. [顾彪, 2012. 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.]
- HAN CZ, 2014. Research progress on nature regeneration of wild *Glycyrrhiza uralensis* Fisch [J]. *Northern Hortic*, 5: 188–193. [韩长志, 2014. 植物病原卵菌 RXLR 效应基因功能研究进展 [J]. *北方园艺*, 5: 188–193.]
- HILLER N, BHATTACHARJEE S, OOIJ C, et al, 2004. A host-targeting signal in virulence proteins reveals a secretome in malarial infection [J]. *Science*, 306(5 703): 1 934–1 937.
- HOFZUMAHAUS S, SCHALLMEY A, 2013. *Escherichia coli*-based expression system for the heterologous expression and purification of the elicitor β -cinnamomin from *Phytophthora acinamomi* [J]. *Protein Expr Purif*, 90(2): 117–123.
- KALE S, GU B, CAPELLUTO D, et al, 2010. External lipid PI3P mediates entry of eukaryotic pathogen effectors into plant and animal host cells [J]. *Cell*, 142(2): 284–295.
- KAMOUN S, 2001. Non host resistance to *Phytophthora*: novel prospects for a classical problem [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 4: 295–300.
- KAMOUN S, YOUNG M, GLASCOCK C, et al, 1993. Extracellular protein elicitors from *Phytophthora*: host-specificity and induction of resistance to bacterial and fungal phytopathogens

- [J]. *Mol Plant Micro Inter*, 6: 15–25.
- LI X, HAN B, DONG H, et al, 2013. Hpa1 harpin needs nitrotyl terminus to promote vegetative growth and leaf photosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *J Biosci*, 39: 127–137.
- LI X, HAN B, DONG H, et al, 2014. Plant growth enhancement and associated physiological responses are coregulated by ethylene and gibberellins in response to harpin protein Hpa1 [J]. *Planta*, 239: 831–846.
- LIU Z, QIU A, HE S, et al, 2015. SRC2-1 is required in PcINF1-induced pepper immunity by acting as an interacting partner of PcINF1 [J]. *J Exp Bot*, doi: 10.1093/jxb/erv161.
- LU B, LI X, SUN W, et al, 2013. AtMYB44 regulates resistance to the green peach aphid and diamondback moth by activating *EIN2*-affected defenses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Biol (Stuttgart)*, 15: 841–850.
- MARTI M, GOOD R, RUG M, et al, 2004. Targeting malaria virulence and remodeling proteins to the host erythrocyte [J]. *Science*, 306(5 703): 1 930–1 933.
- OOME S, TOM M, VAN A, et al, 2014. Nep1-like proteins from three kingdoms of life act as a microbe-associated molecular pattern in *Arabidopsis* [J]. *PNAS*, 111(47): 16 955–16 960.
- OOME S, VAN A, 2014. Comparative and functional analysis of the widely occurring family of Nep1-like proteins [J]. *Mol Plant Micro Interact*, 27(10): 1 081–1 094.
- OTTMANN C, LUBERACKI B, KUFNER I, et al, 2009. A common toxin fold mediates microbial attack and plant defense [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106: 10 359–10 364.
- PEL MJC, WINTERMANS PCA, CABRAL A, et al, 2014. Functional analysis of *Hyaloperonospora arabidopsidis* RXLR effectors [J]. *PLoS ONE*, 9(11): e110624.
- PEMBERTON C, SALMOND G, 2004. The Nep1-like proteins a growing family of microbial elicitors of plant necrosis [J]. *Mol Plant Pathol*, 5(4): 353–359.
- PERNOLLET C, SALLANTIN M, SALLE M, et al, 1993. Elicitins isoforms from seven *Phytophthora* species: comparison of their physical chemical properties and toxicity to tobacco and other plant species [J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 42: 53–67.
- PRADIP K, LAKSHMI V, RAJESHWER S, et al, 2014. Oligomerization, conformational stability and thermal unfolding of Harpin, HrpZpss and its hypersensitive response inducing C-terminal fragment, C-214-HrpZpss [J]. *PLoS ONE*, 9(12): 109 871.
- REHMANY AP, GORDON A, ROSE LE, et al, 2005. Differential recognition of highly divergent downy mildew avirulence gene alleles by RPP1 resistance genes from two *Arabidopsis* lines [J]. *Plant Cell*, 17(6): 1 839–1 850.
- SANG S, LI X, DONG H, et al, 2012. Apoplastic and cytoplasmic location of harpin protein Hpa1Xoo plays different roles in H₂O₂ generation and pathogen resistance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Mol Biol*, 79(4–5): 375–391.
- SANTHANAM P, ESSE H, ALBERT I, et al, 2013. Evidence for functional diversification within a fungal NEP1-like protein family [J]. *Mol Plant-Micro Interact*, 26(3): 278–286.
- SASABE M, TAKEUCHI K, KAMOUN S, et al, 2000. Independent pathways leading to apoptotic cell death, oxidative burst and defense gene expression in response to elicitor in tobacco cell suspension culture [J]. *Eur J Biochem*, 267: 5 005–5 013.
- TAKAMI H, HORIKOSHI K, 2000. Analysis of the genome of an alkaliphilic *Bacillus* strain from an industrial point of view [J]. *Extremophiles*, 4(2): 99–108.
- THOMMA B, NURNBERGER T, JOOSTEN M, 2011. Of PAMPs and effectors: The blurred PTI-ETI dichotomy [J]. *Plant cell*, 23(1): 4–15.
- TSUDA K, KATAGIRI F, 2010. Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 13(4): 459–465.
- VILLELA D, CAMMILO L, COSTA M, et al, 2014. Nep1-like protein from *Monilophthora perniciosa* induces a rapid proteome and metabolome reprogramming in cells of *Nicotiana benthamiana* [J]. *Physiol Plant*, 150: 1–17.
- WANG H, YANG X, QIU D, et al, 2015. PeBL1, a novel protein elicitor from *Brevibacillus laterosporus* strain A60, activates defense responses and systemic resistance in *Nicotiana benthamiana* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 81(8): 2 706–2 716.
- WANG J, CAI Y, GOU J, et al, 2004. VdNEP, an elicitor from *Verticillium dahliae*, induces cotton plant wilting [J]. *Appl Environ Microbiol*, 70(8): 4 989–4 995.
- WANG Q, HAN C, FERREIRA AO, et al, 2011. Transcriptional programming and functional interactions within the *Phytophthora sojae* RXLR effector repertoire [J]. *Plant Cell*, 23(6): 2 064–2 086.
- WEI Z, BEER S, 1996. Harpin from *Erwinia amylovora* induces plant resistance [J]. *Acta Hort*, 411: 223–225.
- WEI Z, RON L, CATHY Z, et al, 1992. Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora* [J]. *Sci New Ser*, 257(5 066): 85–88.
- YAENO T, LI H, CHAPARRO GA, et al, 2011. Phosphatidylinositol monophosphate-binding interface in the oomycete RXLR effector AVR3a is required for its stability in host cells to modulate plant immunity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108(35): 14 682–14 687.
- YU X, TANG J, WANG Q, et al, 2012. The RXLR effector Avh241 from *phytophthora sojae* requires plasma membrane location to induce plant cell death [J]. *New phytol*, 196(1): 247–260.
- ZAMIOUDIS C, PIETERSE C, 2012. Modulation of host immunity by beneficial microbes [J]. *Mol Plant Micro Interact*, 25(2): 139–150.
- ZHANG H, WU Q, CAO S, et al, 2014. A novel protein elicitor (SsCut) from *Sclerotinia sclerotiorum* induces multiple defense responses in plants [J]. *Plant Mol Biol*, 86(4–5): 495–511.
- ZHANG L, SHAO M, LI W, et al, 2011. Overexpression of a Harpin-encoding gene *hrf1* in rice enhances drought tolerance [J]. *J Exp Bot*, 62(12): 4 229–4 238.
- ZHANG Y, YANG X, ZENG H, et al, 2014. Fungal elicitor protein PebC1 from *Botrytis cinerea* improves disease resistance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Biotechnol Lett*, 36(5): 1 069–1 078.
- ZHANG Y, ZHANG Y, QIU D, et al, 2015. BcGs1, a glycoprotein from *Botrytis cinerea*, elicits defence response and improves disease resistance in host plants [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 457(4): 627–634.