

范梦佳,丁夏威,汤法江,等.甘薯茎腐病菌(*Dickeya dadantii*)效应子的预测及比较分析[J].江苏农业科学,2025,53(6):76-82.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.06.008

## 甘薯茎腐病菌(*Dickeya dadantii*)效应子的预测及比较分析

范梦佳<sup>1,2</sup>,丁夏威<sup>2,3</sup>,汤法江<sup>2,3</sup>,邹宏达<sup>2</sup>,王章英<sup>2</sup>,谢甲涛<sup>1</sup>,黄立飞<sup>2</sup>

(1. 华中农业大学植物科学技术学院,湖北武汉 430070; 2. 广东省农业科学院作物研究所/广东省农作物遗传改良重点实验室,广东广州 510640; 3. 华南农业大学农学院,广东广州 510640)

**摘要:**甘薯茎腐病对甘薯产量危害严重,由达旦提狄克氏菌(*Dickeya dadantii*)侵染引起,危害茎基、叶片和根部,影响甘薯生长造成经济损失。病原菌在引起寄主植物发病的过程中通常会分泌效应子参与互作机制,促使病原菌在寄主上完成侵入、定殖和发病扩展。本研究针对甘薯茎腐病病原菌达旦提狄克氏菌效应子进行预测分析,再与其他不同寄主植物的达旦提狄克氏菌效应子进行比较,分析病原菌在甘薯与其他寄主植物中分泌的效应子是否存在差异,以了解甘薯茎腐病菌特异性。挑选寄主植物分别是甘薯、天竺葵、苹果和香蕉的 4 种菌株 CZ1501、DSM18020、BI3-1 和 XJ12 的基因组进行分析,用 SignalP、TMHMM、PSORTb、CELLO、Cell-PLoc 和 LipoP 生物信息学软件和预测程序依次对 4 个达旦提狄克氏菌菌株中蛋白序列进行分泌蛋白预测,筛选候选效应子,再通过信号肽长度、氨基酸含量分析,以及利用 UniProt 数据库、Pfam 数据库和 NCBI-Conserved Domain Search Service(CD Search)进行分泌蛋白功能预测,共得到 30 个符合条件的候选效应分子,然后比较分析不同寄主植物菌株的效应子分布及功能的相似性及特异性,更加准确地明确了甘薯茎腐病菌的候选效应子的特点。

**关键词:**甘薯;茎腐病;基因组;生物信息学;效应子

**中图分类号:**S435.313<sup>+</sup>.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)06-0076-07

甘薯茎腐病是甘薯生育期内一种危害严重的细菌性病害,由达旦提狄克氏菌(*Dickeya dadantii*)侵染引起<sup>[1-2]</sup>。自 2010 年报道以来,目前在海南、广东、重庆、河北、江西、福建、广西、河南、江苏等地区均有发生<sup>[3-4]</sup>。其典型危害症状是茎基部软化腐烂、变黑,叶片发黄,根茎维管束变黑褐色,导致根部腐烂变臭,甘薯腐烂后不出苗或者出苗后植株萎蔫腐烂,对甘薯生产影响很大<sup>[5-6]</sup>。研究及时有效的甘薯茎腐病防控措施具有重要的意义,目前主要以选育与应用抗病品种为基础,重点加强检疫监管,采取培育无病健苗、与非寄主作物轮作、再结合化学农药防治的综合防控措施<sup>[7-8]</sup>。

目前对植物病害病原菌的研究逐渐深入,病原菌分泌效应子作用机制探究成为研究病原菌与寄

主植物互作的主要内容<sup>[9-10]</sup>。依据植物病原菌效应分子保守基序(motif)的特点,多数病原菌的效应分子都属于分泌蛋白,分泌蛋白是细胞蛋白中一类调节生物活性小分子蛋白,在细胞内合成并通过各种分泌渠道转运到细胞各处,使细胞适应不同的环境条件<sup>[11-12]</sup>。大多数分泌效应子具有以下特征:无跨膜结构域;重复原件多;含有 N-端信号肽;定位在细胞质;序列具有高度特异性;氨基酸残基数量为 50~300 个氨基酸;富含半胱氨酸<sup>[10-13]</sup>。基于此,研究者运用生物信息学软件对效应子进行了预测,为探究植物病原菌与寄主互作机制奠定了基础<sup>[14-16]</sup>。

本研究于 2023 年 11 月在广东省农业科学院开始对达旦提狄克氏菌菌株蛋白序列数据进行分析,基于 NCBI 已公布的达旦提狄克氏菌菌株全基因组信息,结合分泌效应子的主要特征,在生物信息学软件的基础上对该病原菌候选效应子进行预测,分别把不同寄主植物的病原菌菌株候选效应子预测结果进行比对分析,再对筛选到的不同候选效应子进行功能预测,初步了解其他寄主植物病原菌分泌的效应子与甘薯寄主病原菌效应子是否存在共同

收稿日期:2024-03-28

基金项目:国家甘薯产业技术体系建设专项(编号:CARS-10);广东省甘薯马铃薯产业技术体系建设专项(编号:2023KJ111)。

作者简介:范梦佳(2000—),女,河南确山人,硕士研究生,从事甘薯抗病育种研究。E-mail:718279505@qq.com。

通信作者:黄立飞,博士,研究员,从事甘薯抗病育种研究。E-mail:hlfl57@163.com。

性和差异性,以期为达旦提狄克氏菌效应子的进一步筛选与验证提供依据,为后续探究达旦提狄克氏菌效应子在与甘薯互作过程中的作用奠定基础,为寻找甘薯茎腐病(*D. dadantii*)防控方法提供新的途径和依据。

1 材料与方法

1.1 基因组信息

目前 NCBI 已公布的达旦提狄克氏菌株有 23 种(表 1),从中选出寄主植物不同的 4 株病原菌菌株 CZ1501(甘薯)、DSM18020(天竺葵)、BI3-1(苹果)和 XJ12(香蕉)。4 个菌株蛋白序列从 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/>)上下载,4 个菌株基因组分别包含 4 190、4 278、3 950、4 254 个蛋白序列。

1.2 分泌组蛋白序列分析及预测

通过 SignalP v6.0 (SignalP 6.0 - DTU Health Tech - Bioinformatic Services)依次分析 4 株达旦提狄克氏菌的蛋白序列,筛选得到具有信号肽的蛋白

序列;之后用 TMHMM v2.1 进行分析筛选得到没有跨膜结构域的蛋白序列;将分析结果进行序列长度分析,并去除大于 300 个氨基酸的蛋白序列;再选出跨膜结构域小于 2 的蛋白序列进行亚细胞定位分析,分析软件有 PSORTb (<https://www.psort.org/psortb/>)、CELLO (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>)、Cell - PLoc v2.0 ([http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell - PLoc - 2/](http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/))。

1.3 分泌组蛋白 multiple tandem repeats 序列分析和信号肽酶识别位点分析

将“1.2”节筛选得到的 4 个菌株的蛋白质序列分别进行 multiple tandem repeats(多个串联重复)序列分析,multiple tandem repeats 用 T-Reks ([http://bioinfo.montp.cnrs.fr/? r = t - reks/](http://bioinfo.montp.cnrs.fr/?r=t-reks/))进行预测,再用 LipoP 1.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/LipoP>)预测蛋白质序列中的脂蛋白,再区分革兰氏阴性菌 N 端膜螺旋、其他信号肽和脂蛋白信号肽。

表 1 NCBI 数据库中的达旦提狄克氏菌菌株

菌株名称	组装号	提交者	寄主	地理位置
CZ1501	ASM199527v1	浙江大学生物技术研究所	甘薯	中国;浙江杭州
DSM18020	ASM304978v1	中国农业科学院麻纤维作物研究所和南方经济作物研究中心	天竺葵	科摩罗
BI3-1	ASM990331v1	美国国家农业及食品研究组织(NARO)	苹果	日本;岩手县
XJ12	ASM3016853v1	华南农业大学	香蕉	中国;广州
3937	ASM14705v1	国际欧文尼亚联盟	紫罗兰	非洲
FZ06	ASM2564337v1	华南农业大学	香蕉	菲律宾
S3-1	ASM1890420v1	辅仁大学	白花马蹄莲	中国台湾;台北、阳明山地区
M2-3	ASM2004715v1	福建省农业科学院	马铃薯	中国;霞浦,福建
NCPB898	DDA898_1.0	詹姆斯·赫顿研究所	天竺葵	科摩罗
NCPB2976	DDA2976_1.0	詹姆斯·赫顿研究所	黛粉芋	美国
NCPB3537	DDA3537_1.0	詹姆斯·赫顿研究所	马铃薯	秘鲁
1950-22	ASM3713671v1	康奈尔大学	马铃薯	美国
1950-23	ASM3713669v1	康奈尔大学	马铃薯	美国
1950-16	ASM3713687v1	康奈尔大学	马铃薯	美国
1950-17	ASM3713597v1	康奈尔大学	马铃薯	美国
A622-S1-A17	ASM2040667v1	索邦大学	河水	法国;杜兰斯河
Kunimi-3	ASM1316857v1	美国国家农业及食品研究组织(NARO)	桃	日本;福岛
Kousui1-1	ASM1316847v1	美国国家农业及食品研究组织(NARO)	梨	日本;佐贺县
Yana2-2	ASM1316845v1	美国国家农业及食品研究组织(NARO)	桃	日本;福岛
Housui2-1	ASM1316846v1	美国国家农业及食品研究组织(NARO)	梨	日本;佐贺县
Aka1-1	ASM1316848v1	美国国家农业及食品研究组织(NARO)	桃	日本;福岛
BI1-1	ASM1316849v1	美国国家农业及食品研究组织(NARO)	苹果	日本;岩手县
ICMP9290	ASM2350785v1	新西兰植物和食品研究所有限公司	甘薯	巴布亚新几内亚

1.4 分泌组蛋白功能预测

将“1.3”节筛选得到的蛋白序列用 UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org/>)、Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 和 NCBI - Conserved Domain Search Service (CD Search) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 相结合进行蛋白质功能预测,分析分泌组蛋白功能信息。

2 结果与分析

2.1 分泌组蛋白序列分析及预测结果

对 4 个菌株的蛋白序列依次进行 SignalP v6.0 预测分析,结果显示 CZ1501 菌株蛋白序列中 493 个具有信号肽、DSM18020 菌株有 413 个具有信号肽的蛋白序列、BI3 - 1 菌株有 380 个具有信号肽的蛋白序列、XJ12 菌株有 407 个具有信号肽的蛋白序列。依据分泌蛋白具有“无跨膜结构域”特征,再用 TMHMM v2.0 依次筛选分析 4 个菌株的信号肽蛋白序列(表 2)。CZ1501 菌株 493 个信号肽蛋白序列中预测得到其中有 387 个是 0 个跨膜结构域,占比 78.50%;有 86 个是 1 个跨膜结构域,占比 17.44%;有 4 个是 2 个跨膜结构域,占比 0.81%;有 16 个是

大于 2 个跨膜结构域,占比 3.25%。DSM18020 菌株 413 个信号肽蛋白序列中预测得到其中有 340 个是 0 个跨膜结构域,占比 82.32%;有 62 个是 1 个跨膜结构域,占比 15.01%;有 1 个是 2 个跨膜结构域,占比 0.24%;有 10 个是大于 2 个跨膜结构域,占比 2.43%。BI3 - 1 菌株 380 个信号肽蛋白序列中预测得到其中有 314 个是 0 个跨膜结构域,占比 82.63%;有 56 个是 1 个跨膜结构域,占比 14.74%;有 10 个是大于 2 个跨膜结构域,占比 2.63%。XJ12 菌株 407 个信号肽蛋白序列中预测得到其中有 332 个是 0 个跨膜结构域,占比 81.57%;有 63 个是 1 个跨膜结构域,占比 15.48%;有 1 个是 2 个跨膜结构域,占比 0.25%;有 11 个是大于 2 个跨膜结构域,占比 2.70%。由于 TMHMM v2.0 在线预测并不能完全准确地对信号肽序列和具体跨膜域进行有效区分,而且只含有 1 个跨膜结构域的信号肽蛋白其跨膜结构具体位置均在 N 端,可能与之前蛋白质所预测的信号肽序列重合,所以,本研究选取信号肽蛋白质跨膜结构域小于 2 的蛋白序列进行下一步研究,以保证后续筛选的候选效应因子预测的准确性。

表 2 菌株蛋白序列跨膜结构域检测结果

菌株种类	不含跨膜结构域个数 及占比(%)	1 个跨膜结构域个数 及占比(%)	2 个跨膜结构域个数 及占比(%)	大于 2 个跨膜结构域个数 及占比(%)
CZ1501	387/78.50	86/17.44	4/0.81	16/3.25
DSM18020	340/82.32	62/15.01	1/0.24	10/2.43
BI3 - 1	314/82.63	56/14.74	0/0	10/2.63
XJ12	332/81.57	63/15.48	1/0.25	11/2.70

由于分泌蛋白通常都是小分子蛋白,其氨基酸含量在 300 个以下,对跨膜结构域检测筛选后的蛋白质序列进行长度统计分析(图 1),分别筛选出 4 个菌株长度小于 300 个氨基酸的蛋白质序列。再进一步进行亚细胞定位分析,由于革兰氏阴性细菌分泌蛋白通路较为复杂,其膜结构为双层,分别为细胞内膜、周质空间、细胞外膜,故当分泌蛋白检测在细胞内膜外均属于胞外蛋白<sup>[17]</sup>。经检测 CZ1501 菌株共得到 164 个胞外蛋白,所占比例为 73.21%,其中在周质空间定位到 97 个蛋白,细胞外膜有 36 个蛋白,细胞外有 31 个蛋白;其余 60 个蛋白质分泌至细胞内,所占比例为 26.79%,其中细胞质有 19 个蛋白,细胞内膜有 41 个蛋白。DSM18020 菌株共得到 151 个胞外蛋白,所占比例为 82.51%,其中在周

质空间定位到 131 个蛋白,细胞外膜有 16 个蛋白,细胞外有 4 个蛋白;其余 32 个蛋白质分泌至细胞内,所占比例为 17.49%,其中细胞质有 21 个蛋白,细胞内膜有 11 个蛋白。BI3 - 1 菌株共得到 148 个胞外蛋白,所占比例为 83.62%,其中在周质空间定位到 94 个蛋白,细胞外膜有 33 个蛋白,细胞外有 21 个蛋白;其余 29 个蛋白质分泌至细胞内,所占比例为 16.38%,其中细胞质有 11 个蛋白,细胞内膜有 18 个蛋白。XJ12 菌株共得到 154 个胞外蛋白,所占比例为 81.48%,其中在周质空间定位到 95 个蛋白,细胞外膜有 37 个蛋白,细胞外有 22 个蛋白;其余 35 个蛋白质分泌至细胞内,所占比例为 18.52%,其中细胞质有 15 个蛋白,细胞内膜有 20 个蛋白(图 2)。

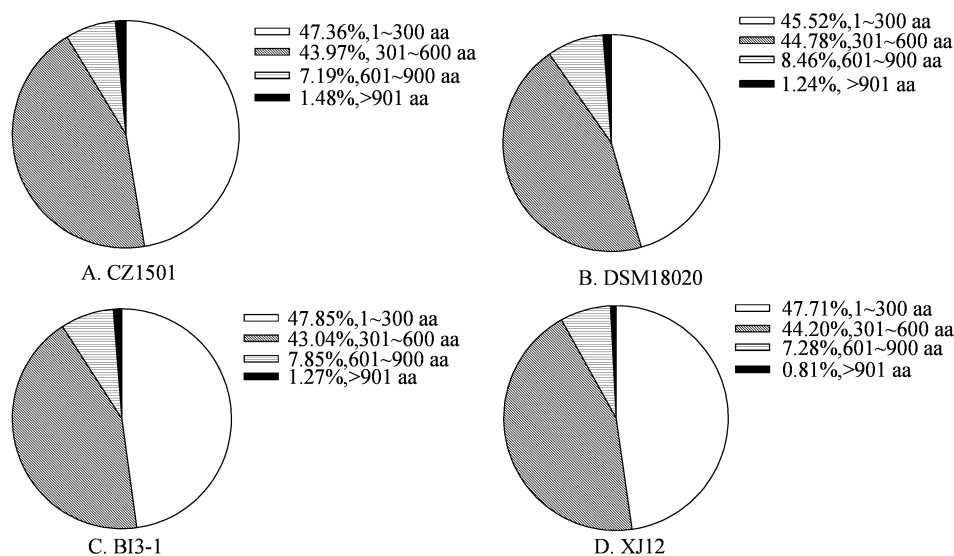


图1 达旦提狄克氏菌候选效应子长度分析

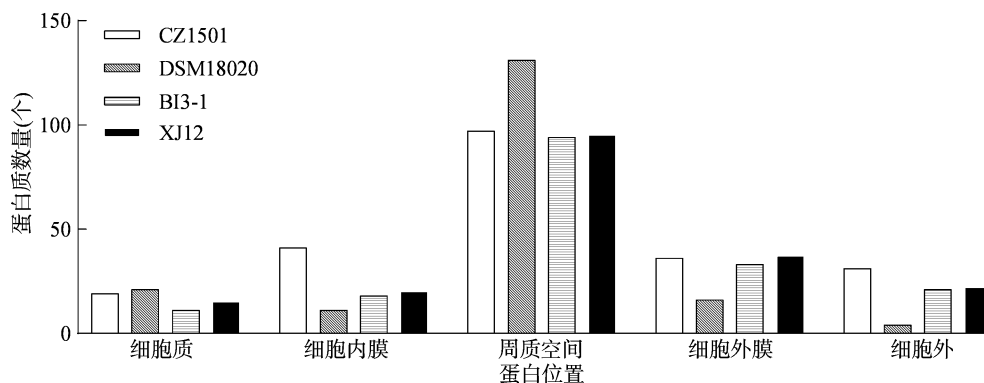


图2 达旦提狄克氏菌候选效应子亚细胞定位结果

## 2.2 分泌组蛋白 multiple tandem repeats 序列分析及信号肽特征分析结果

将筛选到的 4 个菌株胞外蛋白质序列进行 multiple tandem repeats 序列分析,用 T-Reks 工具进行预测。CZ1501 菌株、DSM18020 菌株和 BI3-1 菌株均具有 9 个多段重复序列蛋白;XJ12 菌株具有 8 个多段重复序列蛋白。接下来用 LipoP 1.0 Serve 预测平台对上述预测的分泌蛋白信号肽酶识别位点再进一步预测分析,结果显示 CZ1501 菌株中的蛋白序列有 6 个含有 Sp I 型信号肽识别位点,占比为 66.67%;有 3 个含有 Sp II 型信号肽识别位点,占比为 33.33%。DSM18020 菌株和 BI3-1 菌株中的蛋白序列均有 8 个含有 Sp I 型信号肽识别位点,占比为 88.89%;有 1 个含有 Sp II 型信号肽识别位点,占比为 11.11%。XJ12 菌株中的蛋白序列有 7 个含有 Sp I 型信号肽识别位点,占比 87.50%;有 1 个含有 Sp II 型信号肽识别位点,占比 12.50%。说明病原菌达旦提狄克氏菌中的候选效应子主要是由 Sp

I 型信号肽酶进行识别。

接下来对 4 个菌株候选效应子蛋白中信号肽氨基酸出现的频率进行分析,分析结果(图 3)表明,在总的信号肽氨基酸中,4 个菌株氨基酸总类丙氨酸(A)的数量最多,其次是赖氨酸(K)、谷氨酰胺(Q)、丝氨酸(S)、亮氨酸(L)、苏氨酸(T)、甘氨酸(G)和缬氨酸(V),整体数量较多,天冬氨酸(D)、异亮氨酸(I)、天冬酰胺(N)、精氨酸(R)、谷氨酸(E)、酪氨酸(Y)、脯氨酸(P)、苯丙氨酸(F)、甲硫氨酸(M)、组氨酸(H)、半胱氨酸(C)和色氨酸(W)整体含量逐渐呈下降趋势,由此可见地理位置不同的菌株其候选效应子蛋白中信号肽氨基酸出现的频次差距不大,整体含量分布较相似。统计发现,CZ1501 菌株中芳香族氨基酸(F、W 和 Y)出现频率占 5.96%;带正电荷的碱性氨基酸(K、R 和 H)占 12.42%;带负电荷的酸性氨基酸(D 和 E)占 8.80%;有极性、不带电荷的氨基酸(Q、S、T、N 和 C)占 29.65%;非极性、疏水性氨基酸(A、L、M、G、

V、I、P) 出现频率最高, 占 43.28%。DSM18020 菌株中芳香族氨基酸(F、W 和 Y) 出现频率占 5.52%; 带正电荷的碱性氨基酸(K、R 和 H) 占 14.72%; 带负电荷的酸性氨基酸(D 和 E) 占 8.88%; 有极性、不带电荷的氨基酸(Q、S、T、N 和 C) 占 27.83%; 非极性、疏水性氨基酸(A、L、M、G、V、I、P) 出现频率最高, 占 43.06%。BI3-1 菌株中芳香族氨基酸(F、W 和 Y) 出现频率占 5.03%; 带正电荷的碱性氨基酸(K、R 和 H) 占 14.55%; 带负电荷的酸性氨基酸(D 和 E) 占 9.98%; 有极性、不带电荷的氨基酸(Q、S、T、N 和 C) 占 27.62%; 非极性、疏水性氨基酸(A、L、M、G、V、I、P) 出现频率最高, 占 42.82%。XJ12 菌株中芳香族氨基酸(F、W 和 Y) 出现频率占 4.95%; 带正电荷的碱性氨基酸(K、R 和 H) 占 14.20%; 带负电荷的酸性氨基酸(D 和 E) 占 8.36%; 有极性、不带电荷的氨基酸(Q、S、T、N 和 C) 占 28.98%; 非极性、疏水性氨基酸(A、L、G、M、V、I、P) 出现频率占 43.53%。

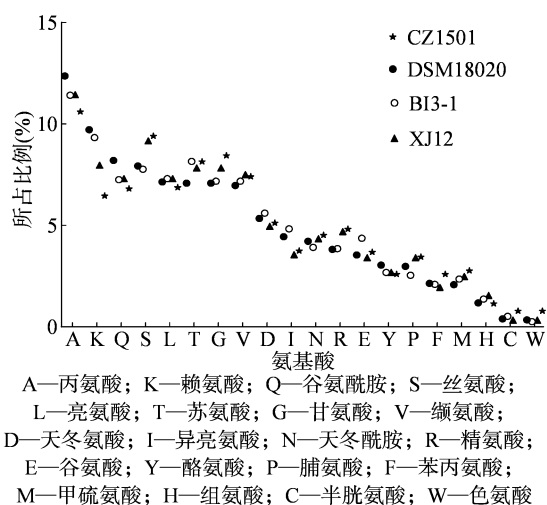


图3 达旦提狄克氏菌候选效应子信号肽氨基酸分布频率

### 2.3 候选效应子功能预测结果

将“2.2”节得到的 4 个菌株候选效应子蛋白序列用 UniProt 数据、Pfam 数据库和 NCBI - Conserved Domain Search Service (CD Search) 进行蛋白质功能预测, 结果(表 3)表明 CZ1501、DSM18020 和 BI3-1 等 3 个菌株均预测到 9 个候选效应子, XJ12 菌株预测到 8 个候选效应子, 4 个菌株均含有 1 个相同的候选效应子蛋白 WP\_013316008.1, 该蛋白序列分子功能是进行脂多糖结合, 参与多糖的合成; WP\_013318322.1 蛋白是 DSM 18020、BI3-1 和 XJ12 菌株共有的, CZ1501 菌株没有, 该蛋白属于结构域蛋

白, 经检测具有参与甘氨酸活动链接 2TM 的功能。结果表明, 4 个菌株候选效应子蛋白其基因注释具有一定相似性也存在特异性, 但大多数蛋白质具体功能尚不明确需要进一步研究确定。

### 3 结论与讨论

效应因子作为植物病原菌的重要功能蛋白, 由病原菌分泌至寄主体内完成侵入、定殖和扩展来实现寄主植物发病。目前针对真菌效应子研究较深入, 闫丽斌等对已知的玉米大斑病病原菌全基因组序列进行候选效应子预测, 主要对预测到的蛋白质信号肽长度、冗余性和半胱氨酸含量进行深入分析比较, 最终预测到 60 个候选效应子<sup>[16]</sup>。罗梅等对球孢白僵菌基因组候选效应子进行预测, 通过多个串联重复序列分析、半胱氨酸含量和病原菌与寄主互作数据库进行深度比对分析, 筛选得到 18 个候选致病相关的效应子<sup>[18]</sup>。戚培培等针对青枯劳尔氏菌Ⅲ型效应子的毒性机制和无毒功能进行分析, 了解细菌分泌蛋白的功能机制, 为病原菌致病机制和寄主植物抗病机制奠定了基础<sup>[19]</sup>。病原菌效应子的主要功能是抑制植物免疫反应的发生, 诱导寄主感病, 其次病原菌利用效应子干扰寄主植物的蛋白转运、营养与代谢、基因转录、气孔运动等多种生理过程<sup>[20]</sup>。效应子通过攻击寄主植物细胞膜上参与免疫反应的受体复合物, 干扰免疫蛋白的功能, 阻止免疫信号的正常传导<sup>[21-23]</sup>, 同时部分效应子对寄主植物生理过程产生影响, 降低植物自身抗病性, 以致病原菌达到侵染寄主的目的。

本研究结果显示 CZ1501、DSM18020 和 BI3-1 等 3 个菌株均预测到 9 个候选效应子, XJ12 菌株预测到 8 个候选效应子。4 个菌株仅共有 1 个属于结合蛋白的候选效应子, 且每个菌株候选效应子里面均含有不同的分子伴侣, 经分子功能检测可能参与协助周质间隙内大分子蛋白结构的折叠或退褶, 有研究表明分子伴侣在革兰氏阴性细菌中, 多数参与蛋白质边翻译边折叠的过程, 帮助多肽折叠、转运和装备, 同时分子伴侣还可以参与介导细菌细胞周质空间耐酸机制, 在病原菌侵染寄主植物时, 会遇到不同寄主植物的外界压力如强离子浓度、高温以及强酸碱度的极端环境, 通过分子伴侣对底物蛋白重新折叠, 使其结构发生变化来增加病原菌的致病力<sup>[24]</sup>。故 4 个菌株中的分子伴侣由于达旦提狄克氏菌侵染不同寄主植物时, 面对不同寄主植物的生

表 3 菌株效应子功能预测结果

NCBI 序列号	蛋白长度 (aa)	CZ1501	DSM18020	BI3 - 1	XJ12	基因注释	可能的分子功能
WP_013316008.1	192	★	★	★	★	结合蛋白	脂多糖结合
WP_013318322.1	155		★	★	★	结构域蛋白	甘氨酸链接 2TM
WP_033111838.1	134		★			假定蛋白	未知功能蛋白
WP_038909939.1	186		★			膜调节蛋白	未折叠蛋白结合
WP_038910033.1	221		★			结合蛋白	膜间磷脂转运
WP_038911980.1	188		★			假定蛋白	未知功能蛋白
WP_050570167.1	218		★			分子伴侣	协助大分子结构折叠/退褶
WP_107768227.1	274		★			细胞分裂蛋白	蛋白质结合
WP_107768312.1	211		★			碱性蛋白	染色质的结构成分、DNA 结合
WP_013316197.1	218			★		分子伴侣	协助大分子结构折叠/退褶
WP_038901132.1	134			★		假定蛋白	未知功能蛋白
WP_161450641.1	217			★		磷酸结合蛋白	膜间磷脂转运
WP_161451110.1	174			★		膜调节蛋白	未折叠蛋白结合
WP_161451196.1	188			★		假定蛋白	未知功能蛋白
WP_161451687.1	128			★		假定蛋白	未知功能蛋白
WP_161452842.1	126			★		耐酸重复碱性蛋白	未知功能蛋白
WP_013318631.1	215				★	结构域蛋白	未知功能蛋白
WP_171852652.1	217				★	磷脂结合蛋白	膜间磷脂转运
WP_284602493.1	218				★	分子伴侣	协助大分子结构折叠/退褶
WP_284602625.1	134				★	假定蛋白	未知功能蛋白
WP_284603076.1	177				★	耐酸重复碱性蛋白	未知功能蛋白
WP_284603640.1	186				★	膜调节蛋白	未知功能蛋白
WP_033111540.1	253	★				结合蛋白	脂多糖结合
WP_033111838.1	134	★				DUF1190 家族蛋白	未知功能蛋白
WP_038901450.1	155	★				假定蛋白	未知功能蛋白
WP_077245099.1	186	★				结构域蛋白	甘氨酸链接 2TM
WP_077245198.1	217	★				膜调节蛋白	未折叠蛋白结合
WP_077245308.1	218	★				磷酸结合蛋白	膜间磷脂转运
WP_077246156.1	201	★				分子伴侣	协助大分子结构折叠/退褶
WP_139348427.1	103	★				调节脂蛋白	参与 RpoE 基因调节

注：★表示菌株内含蛋白。

长特点,其菌株伴随不同的分子伴侣可能具有不同的侵染机制。综合效应子预测结构,达旦提狄克氏菌的 4 个不同寄主植物的菌株效应子重叠率很低,但作用效果相对一致,均含有结合蛋白、假定蛋白、结构域蛋白、膜调节蛋白和分子伴侣。由此可知达旦提狄克氏菌在不同的寄主间分泌的效应子差异比较大,菌株变异较为丰富,侵染适应能力比较强。对比分析发现,寄主植物为甘薯的菌株 CZ1501 预测的分泌蛋白效应子中含有 2 个区别于其他寄主植物为天竺葵、苹果和香蕉的 3 个菌株的效应子蛋白 WP\_139348427.1 和 WP\_033111838.1。WP\_139348427.1 蛋白是调节脂蛋白,经功能检测可能

参与病原菌 RpoE 调节。WP\_033111838.1 蛋白是 DUF1190 家族蛋白,功能未知。有研究显示 RpoE 基因是存在于细菌中的调节基因,对细菌适应各种环境胁迫具有重要的调节作用,其不同外界胁迫条件下对菌株生长能力具有很大影响,如在高低温、酸、氧及高渗胁迫下的调节<sup>[25]</sup>。WP\_139348427.1 蛋白可能参与 RpoE 基因调节,对达旦提狄克氏菌适应甘薯寄主环境顺利完成侵染具有重要意义。该蛋白如何完成协助 RpoE 基因调节及病原菌侵染过程的具体机制还需要进一步探究。DUF 家族蛋白是未表征的家族蛋白,其蛋白结构域包含高度保守的 DUF 结构域,存在于植物中的 DUF

家族蛋白参与调控植物生长发育、植物对非生物胁迫的应答反应和对病虫害的防御反应<sup>[26]</sup>。甘薯预测效应子 WP\_033111838.1 蛋白是未知功能的 DUF1190 家族蛋白,其具体如何参与病原菌致病过程中与甘薯的互作机制还需进一步研究。

本研究初步确定在甘薯寄主植物中达旦提狄克氏菌分泌效应子特点,并与其他 3 种不同寄主植物病原菌效应子进行比较分析,了解甘薯寄主病原菌效应子分泌的共同性和特异性。未来还需进一步大范围对比分析甘薯中病原菌的特异性,寻找达旦提狄克氏菌在侵染甘薯过程中分泌的保守效应子<sup>[20]</sup>,鉴定出达旦提狄克氏菌效应子在甘薯中的靶标,综合运用分子生物学、生物化学和生物信息学等手段,对效应子功能、结构和致病机理进行解析,以增强对甘薯茎腐病菌(*D. dadantii*)致病机制的理解<sup>[27]</sup>。同时效应子也主要参与寄主植物的免疫调控,以甘薯茎腐病菌效应子为工具,寻找甘薯关键免疫调控因子,并寻找其功能和作用机制,为甘薯生育期防治茎腐病提供新的依据和途径。

#### 参考文献:

- [1] 姚海峰,仇智灵,沈肖玲等. 甘薯茎腐病传播侵染途径与田间发病流行因子探讨[J]. 中国农学通报,2020,36(30):112-119.
- [2] 沈肖玲,林 钊,钱俊婷,等. 甘薯茎腐病症状及其病原鉴定[J]. 植物病理学报,2018,48(1):25-34.
- [3] 高 波,王容燕,马 娟,等. 河北省甘薯茎腐病研究初报[J]. 植物保护,2015,41(3):119-122,137.
- [4] 余继华,林飞荣,石建尧,等. 甘薯 2 种新入侵有害生物的防控研究[J]. 农学学报,2019,9(2):18-23.
- [5] 秦素研,黄立飞,葛昌斌,等. 河南省甘薯茎腐病的分离与鉴定[J]. 作物杂志,2013(6):52-55,157.
- [6] 黄立飞,罗忠霞,房伯平,等. 甘薯茎腐病的研究进展[J]. 植物保护学报,2014,41(1):118-122.
- [7] 刘伟明,黄立飞,何贤彪,等. 甘薯茎基部腐烂病防控技术研究[J]. 农学学报,2017,7(10):19-24.
- [8] 杨 晓,张敏荣,余继华,等. 甘薯茎腐病的发生危害及防控对策[J]. 农业与技术,2017,37(2):38,58.
- [9] Cooper B, Campbell K B, Beard H S, et al. Putative rust fungal effector proteins in infected bean and soybean leaves [J]. Phytopathology, 2016, 106(5):491-499.
- [10] Tan K C, Oliver R P. Regulation of proteinaceous effector expression in phytopathogenic fungi[J]. PLoS Pathogens, 2017, 13(4):e1006241.
- [11] 聂燕芳,周 淦,黄嘉瑶,等. 尖孢镰刀菌甜瓜专化型基因组规模分泌蛋白的预测与分析[J]. 华中农业大学学报,2016,35(3):24-29.
- [12] van de Wouw A P, Howlett B J. Fungal pathogenicity genes in the age of 'omics' [J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12(5):507-514.
- [13] 韩长志. 全基因组预测禾谷炭疽菌的分泌蛋白[J]. 生物技术, 2014, 24(2):36-41.
- [14] Wang C F, Zhang S J, Hou R, et al. Functional analysis of the kinome of the wheat scab fungus *Fusarium graminearum* [J]. PLoS Pathogens, 2011, 7(12):e1002460.
- [15] Liu T L, Song T Q, Zhang X, et al. Unconventionally secreted effectors of two filamentous pathogens target plant salicylate biosynthesis[J]. Nature Communications, 2014, 5:4686.
- [16] 闫丽斌,肖淑芹,薛春生. 玉米大斑病菌全基因组候选效应分子的预测和分析[J]. 沈阳农业大学学报,2017,48(1):15-20.
- [17] Hui X J, Chen Z W, Zhang J Y, et al. Computational prediction of secreted proteins in gram-negative bacteria [J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2021, 19:1806-1828.
- [18] 罗 梅,董章勇,林进添,等. 球孢白僵菌基因组候选效应子的预测与分析[J]. 核农学报,2019,33(4):680-686.
- [19] 戚培培,于 晓,李 博. 青枯劳尔氏菌Ⅲ型效应子的致病和无毒机制[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2023,49(5):651-661,707.
- [20] 张美祥,杨 超,刘 俊. 植物病原菌效应子[J]. 科学通报, 2023, 68(36):4895-4917.
- [21] Sugio A, MacLean A M, Kingdom H N, et al. Diverse targets of phytoplasma effectors: from plant development to defense against insects [J]. Annual Review of Phytopathology, 2011, 49:175-195.
- [22] Shan L B, He P, Li J M, et al. Bacterial effectors target the common signaling partner BAK1 to disrupt multiple MAMP receptor-signaling complexes and impede plant immunity [J]. Cell Host & Microbe, 2008, 4(1):17-27.
- [23] 唐 伟,张成玲,马居奎,等. 基于基因组预测和分析甘薯间座壳菌(*Diaporthe batatas*)分泌蛋白中效应因子[J]. 江苏农业学报,2023,39(3):665-673.
- [24] 朱 浩,刘 楠. 分子伴侣蛋白介导的革兰阴性菌耐酸机制研究进展[J]. 中国药科大学学报,2021,52(2):164-170.
- [25] 乔向欣,曾庆梅,曾红亮,等. *rpoE* 基因对环境胁迫下肠炎沙门氏菌生长能力的影响[J]. 中国细胞生物学报,2013,35(5):583-588.
- [26] 罗成科,肖国举,李 明. 不同未知功能结构域蛋白家族(DUFs)基因在植物中的生物学功能[J]. 植物生理学报,2015, 51(2):153-158.
- [27] 邓晓玲,郑永钦,郑 正,等. 柑橘黄龙病菌基因组学的研究进展[J]. 华南农业大学学报,2019,40(5):137-148.