

# 烟草黑胫病菌分子生物学研究进展

王文静<sup>1</sup>, 王晓强<sup>1</sup>, 许永幸<sup>2</sup>, 王凤龙<sup>1</sup>, 任广伟<sup>1</sup>, 王东坤<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院烟草研究所, 青岛 266101; 2. 山东青岛烟草有限公司, 青岛 266000)

**摘要:** 烟草黑胫病是烟草主要病害之一, 每年给烟草生产造成巨大损失。烟草黑胫病菌隶属于卵菌纲疫霉属。近十几年来随着分子生物学技术的迅猛发展, 烟草黑胫病菌的分子生物学研究有了较大进步。本文总结了烟草黑胫病菌在病原菌起源和分类命名、全基因组序列、线粒体基因组序列和功能基因等方面的研究进展, 并分析了烟草黑胫病菌在分子生物学研究方面的未来发展方向, 以期烟草黑胫病菌致病机理研究和烟草分子抗黑胫病育种提供一定的参考。

**关键词:** 烟草黑胫病; 全基因组; 线粒体基因组; 基因

## Progress in Molecular Biology of Tobacco Black Shank

WANG Wenjing<sup>1</sup>, WANG Xiaoqiang<sup>1</sup>, XU Yongxing<sup>2</sup>, WANG Fenglong<sup>1</sup>, REN Guangwei<sup>1</sup>, WANG Dongkun<sup>1</sup>

(1. Tobacco Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao 266101, China; 2. Shandong Qingdao Tobacco Co., Ltd., Qingdao 266000, China)

**Abstract:** Black shank is one of the main diseases in tobacco, which causes vast yield loss each year. Black shank is caused by *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* which belongs to oomycetes *Phytophthora*. In recent years, with the rapid development of molecular biology technology, the molecular biology research of tobacco black shank has made big progress. In this review, we summarize the origin, classification, and designation of the pathogen, as well as the research progresses in nuclear genome sequence, mitochondrial genome sequence, and functional genes in recent years. Future perspectives of molecular biology application in tobacco black shank studies are analyzed as well. This review could provide references for researches on pathogenesis of tobacco black shank and molecular breeding of tobacco resistance to black shank.

**Keywords:** *Phytophthora nicotianae*; whole genome; mitochondrial genome; genes

烟草黑胫病由寄生疫霉菌 (*Phytophthora nicotianae*, 又称 *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan, *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*) 侵染烟草引起, 俗称烟草疫病, 为世界性的烟草病害, 在美洲、非洲和亚洲都有发生, 是烟草生产上最具毁灭性的病害之一, 每年给烟草生产造成巨大损失。目前我国除黑龙江以外的各烟区均有发生, 发生较重的省份有云南、贵州、四川、河南、山东等<sup>[1]</sup>。由于黑胫病的巨大危害, 多年来相关学者对该病进行了大量研究, 在病害症状、病原微生物学特性、病害遗传规律以及病害流行规律等方面取得了较大进展。随着分子生物学技术的兴起, 对黑胫病分子生物学特性的研究也随之展开, 特别是近年来测序技术的迅猛发展大力推动了该领域的研究, 因此本文总结了烟草黑胫病病原菌的起源和分类名称、

全基因组序列、线粒体基因组序列以及功能基因等方面的研究进展, 探讨了利用分子生物学技术深入开展烟草黑胫病菌研究的未来发展方向, 以期黑胫病致病机理的解析和烟草抗黑胫病分子育种提供参考。

### 1 烟草黑胫病菌的起源、分类和名称由来

烟草黑胫病菌隶属于藻物界 (Chromista)、卵菌纲 (Oomycetes)、霜霉目 (Peronosporales)、腐霉科 (Pythiaceae)、疫霉属 (*Phytophthora*)<sup>[2]</sup>。化石证据显示, 最古老的卵菌类似结构可以追溯到 360—400 百万年前的泥盆纪时期<sup>[3]</sup>。卵菌很大程度上起源于海洋环境, 包括很多动物病原菌和植物病原菌, 其中植物病原菌占到 60% 以上<sup>[4]</sup>。

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程 (ASTIP-TRIC04); 国家自然科学基金青年基金 (31901937); 中国烟草总公司山东省公司项目 (201906)

作者简介: 王文静 (1975-), 女, 助理研究员, 主要从事植物病害研究。E-mail: wangwenjing@caas.cn

收稿日期: 2020-11-03

修回日期: 2021-04-29

长久以来，卵菌因为与真菌相似的丝状真核特性，一直被划分为真菌。但随着研究的深入，一些特征表明卵菌和真菌有较远的遗传关系，相反与硅藻和褐藻有较近的亲缘关系<sup>[5-7]</sup>。分子生物学的发展证明了这种分类的科学性。通过分析保守的 DNA 序列，比如线粒体 COX2 (细胞色素氧化酶第 Ⅱ 亚基)，核糖体大亚基 (large-subunit ribosomal DNA, LSU rDNA) 和核糖体小亚基 (small-subunit ribosomal DNA, SSU rDNA) 的基因序列，证明卵菌不属于真菌，而属于囊泡藻界 (Chromalveolata)<sup>[8-10]</sup>。

烟草黑胫病最早由 Breda de Haan 于 1896 年在印度尼西亚的爪哇首次发现和描述，并将其命名为烟草疫霉 (*Phytophthora nicotianae* van Breda de Haan tobacco nicotine)<sup>[11]</sup>。经过漫长的演化过程，现在普遍采用的命名方式是 *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*，或者 *Phytophthora nicotianae*<sup>[11]</sup>。

## 2 烟草黑胫病菌基因组测序分析

### 2.1 烟草黑胫病菌全基因组序列分析

随着测序技术的迅猛发展，疫霉菌的基因组研究进展迅速。目前，一些重要的植物疫霉菌的基因

组已经完成全基因组测序并公布，如致病疫霉菌，大豆疫霉菌，橡树疫霉菌，辣椒疫霉菌和烟草黑胫病菌<sup>[12-15]</sup> (表 1)。这些疫霉菌的基因组大小不等，最大的是致病疫霉菌，为 240 Mb，最小的为辣椒疫霉菌，为 63 Mb。2016 年，烟草黑胫病菌全基因组序列发表，0 号生理小种基因组大小为 80 Mb，包含 17 797 个基因；1 号生理小种基因组大小为 69 Mb，包含 14 542 个基因<sup>[15]</sup>。可以看出，烟草黑胫病菌的基因组大小在已测序的这几个疫霉菌中处于中间位置，远小于致病疫霉菌，与大豆疫霉菌大小相近 (95 Mb)。

### 2.2 烟草黑胫病菌线粒体基因组序列分析

烟草黑胫病菌线粒体基因组形状为环状，大小为 37 561 bp，包含 38 个编码蛋白基因，25 个转运 RNA (tRNA) 基因和 2 个核糖体 RNA (rrnl and rrns) 基因<sup>[16]</sup>。黑胫病菌线粒体基因组大小与其他疫霉菌的线粒体大小基本相同 (表 2)。橡树疫霉菌线粒体基因组大小为 39 314 bp，大豆疫霉菌线粒体基因组大小为 42 977 bp，都包含 37 个相同的蛋白编码基因和 25 或 26 个转运 tRNAs。

表 1 完成全基因组测序的疫霉菌基因组大小、基因数量和效应分子数量

Table 1 Genome size, number of genes and number of effector molecules of *Phytophthora*

疫霉菌种类 Organism	基因组大小 Genome size/Mb	基因数量 Number of genes	RxLR 效应因子数量 Number of RxLR effectors	CRN 效应因子数量 Number of CRN effectors	参考文献 References
致病疫霉菌 <i>P. infestans</i>	240	17 797	563	196	[12]
大豆疫霉菌 <i>P. sojae</i>	95	16 988	335	100	[13]
橡树疫霉菌 <i>P. ramorum</i>	65	14 451	309	19	[13]
辣椒疫霉菌 <i>P. capsici</i>	63.8	19 805	400	80	[14]
烟草黑胫病菌 0 号小种 <i>P. nicotianae</i> race 0	80	17 797	308	32	[15]
烟草黑胫病菌 1 号小种 <i>P. nicotianae</i> race 1	69	14 542	199	26	[15]

表 2 完成测序的疫霉菌线粒体基因组大小

Table 2 The mitochondrial genome size of *Phytophthora*

疫霉菌种类 Organism	线粒体基因组大小 Mitochondrial genome size/bp	参考文献 References
致病疫霉菌 <i>P. infestans</i>	37 957	[12]
大豆疫霉菌 <i>P. sojae</i>	42 977	[13]
橡树疫霉菌 <i>P. ramorum</i>	39 314	[13]
烟草黑胫病菌 <i>P. andina</i>	37 561	[16]
<i>P. mirabilis</i>	37 883(37 874)	[17]
<i>P. ipomoeae</i>	37 778	[17]
<i>P. phaseoli</i>	37 872	[17]
	37 914	[17]

## 3 烟草黑胫病菌已克隆基因

烟草黑胫病菌全基因组序列分析显示，该菌包含大量基因，这些基因在菌丝生长发育和侵染植物中发挥重要作用。病原菌基因中包含一类特殊的基因，即效应因子。效应因子具有保守序列，在病原菌侵染植物时被分泌到植物体内，作用于植物的各个免疫组分，促进侵染。由于效应因子在病原菌和植物互作中的重要作用，效应因子的研究是近年来国际上植物病理学研究的热点内容。疫霉菌基因组内的效应因子主要分为两类，即 RxLR 效应因子

( Arginine-any amino acid-leucine-arginine motif, RxLR ) 和 CRN 效应因子 ( Crinkle and necrosis proteins, Crinklers )<sup>[18]</sup> ( 表 1 )。近年来,黑胫病菌中共有 5 个效应因子得到克隆鉴定,同时还有若干其他基因得到克隆分析。

### 3.1 烟草黑胫病菌中的效应因子

( 1 ) *PSE1*。PSE1 ( Penetration-Specific Effector 1 ) 克隆于 *P.parasitica* Dastur isolate 310, 是烟草黑胫病菌一个 RxLR 效应因子,其转录产物在疫霉菌侵染后几小时内瞬间积累,在拟南芥内表达 PSE1 导致与根尖生长素含量降低相关的生长紊乱。因此研究者推测,寄生疫霉菌在侵入植物过程中分泌效应因子 PSE1 来改变侵入点周围的生长素含量从而促进侵染<sup>[19]</sup>。

( 2 ) *PpE4*。PpE4 是一个 RxLR 效应因子,在病原菌侵染早期高水平表达,且在吸器周围分泌和累积,沉默该基因可以大幅降低疫霉菌对烟草的侵染性,瞬时表达该基因则可以恢复基因沉默菌株的致病性。在烟草和拟南芥中表达该基因可以持续促进病原菌对植物的侵染<sup>[20]</sup>。病毒诱导的基因沉默实验显示 PpE4 诱发的细胞死亡受到热激蛋白 HSP90、磷酸激酶 NPK 和 SGT1 ( suppressor of the G2 allele of SKP1 ) 的调控,表明该基因可以被植物免疫系统识别<sup>[20]</sup>。

( 3 ) *PpRxLR2*。PpRxLR2 是一个 RxLR 效应因子,能够完全抑制 INF-1 诱导的细胞死亡,同时促进病原菌侵染烟草<sup>[21]</sup>。

( 4 ) *PpCRN7* 和 *PpCRN20*。PpCRN7 和 PpCRN20 克隆于 *P. parasitica* isolate IAC 01/95.1, 是 CRN 效应因子成员,其中 PpCRN7 的表达可对激发子 INF-1 诱导的超敏反应( HR )产生加性效应,而 PpCRN20 的表达抑制了本生烟叶片的 HR 反应,虽然它们在超敏反应上的作用相反,但它们都可以增强病原菌的致病性<sup>[22]</sup>。

### 3.2 烟草黑胫病菌中的其他基因

除了效应因子在病原菌的侵染中发挥重要作用外,还有其他基因在病原菌的形态建成和侵染过程中进行调控,目前克隆的相关基因具体研究进展如下。

( 1 ) *ParA1*。ParA1 是一个类似于 PAMP ( microbial- associated molecular pattern ) 的激发子,

是一个 20 个氨基酸的信号肽。1993 年, KAMOUN 等<sup>[23]</sup>对 9 个寄生疫霉菌寄主分离物的 ParA1 进行了研究,结果显示,不同寄主分离物产生 ParA1 的分子机制不同,有的分离物基因组包含 ParA1 基因序列,也产生 ParA1 激发子;但有的分离物基因组虽然包含 ParA1 基因序列,但最终却不产生 ParA1 激发子。在 Northern 检测中,产生 ParA1 的分离物都检测到 RNA,而不产生 ParA1 的分离物都没有检测到 RNA。在此试验里两个烟草分离物都不产生 ParA1 激发子,但其中一个烟草分离物基因组中确实包含 ParA1 基因序列,表明起码在这个分离物里 ParA1 的产生受到了 RNA 水平上的调控<sup>[23]</sup>。

( 2 ) *NPP1*。NPP1 ( Necrosis-inducing *Phytophthora* protein 1, GenBank accession No. AAK19753), 大小为 24 kDa, 克隆于 *P.parasitica* 1828 分离物,可以激活欧芹上 Pep-13 ( peptide fragment) 相似的抗性反应<sup>[24]</sup>。Pep-13 分离自细胞壁谷氨酰胺转移酶,存在于疫霉菌多个种内,在欧芹上激活多个层面的抗性反应<sup>[18]</sup>。NPP1 同时存在于致病疫霉菌和大豆疫霉菌中,其结构上的同源物在卵菌和真菌细胞中都有,但是在植物中没有发现。将 NPP1 注射拟南芥 *Col-0* 植株会导致抗病相关基因的表达,以及活性氧和乙烯的产生<sup>[24]</sup>。

( 3 ) *pppg1*。pppg1, 克隆于 *P. parasitica* isolate 98151 (Taiwan Agricultural Research Institute), 是一个胞外多聚半乳糖醛酸内切酶 ( endopolygalacturonase )。pppg1 基因具有疫霉菌标准的核心启动子和内含子序列 pppg1, 预测的蛋白大小为 39.7 kDa, pI 值为 5.2, 在 N 端包含一个 20 个氨基酸的信号肽。在培养基中, pppg1 的转录受到葡萄糖的抑制,但是可以被果胶诱导。另外, pppg1 在病原菌与植物的互作中高水平表达,表明它在病原菌侵染中发挥作用。在寄生疫霉菌中又克隆到 pppg2-pppg10 共 9 个基因,这些基因在病原菌侵染植物过程中发挥不同作用<sup>[25-26]</sup>。

( 4 ) *PpPDI1*。PpPDI1 ( *Phytophthora parasitica* Protein disulfide isomerase 1, PpPDI1 ) 在烟草黑胫病菌侵染时与吸器结构的发育有关,同时与病原菌的致病性相关<sup>[27]</sup>。PpPDI1 可以诱导强烈的烟草叶片细胞死亡,其 CGHC 功能结构区对诱导细胞死亡是必须的; PpPDI1 特异性累积在吸器,并且菌的吸器明显增多,增强了病原菌的定殖能力,这些结果表

明,在侵染过程中 PpPDI1 可能作为一个毒性因子对病原菌侵染寄主植物发挥重要作用<sup>[27]</sup>。

(5) *DLC1*。疫霉菌的双鞭毛游动孢子是促进疫霉菌侵染寄主植物的重要工具,在疫霉菌侵染过程中发挥重要作用,而鞭毛的组装和功能取决于许多基于动力蛋白的分子马达,它们促进鞭毛内逆行运输和鞭毛轴丝中相邻微管双倍的滑动<sup>[28]</sup>。动力蛋白轻链 1 (Dynein light chain 1, *DLC1*) 是动力蛋白外臂多蛋白复合物中的一种,是一个 22 kDa 的富含亮氨酸的蛋白,结合在动力蛋白  $\beta$  重链上<sup>[28]</sup>。烟草疫霉菌中 *DLC1* 同源物 *PnDLC1* 是单拷贝基因,通过筛选烟草疫霉菌 BAC 基因组文库而获得,主要在孢子菌丝发育中发挥作用,其在孢子菌丝中比在营养菌丝、游动孢子或萌发囊中基因表达水平更高<sup>[28]</sup>。RNAi 介导的 *PnDLC1* 基因沉默转化体产生了无鞭毛、静止的游动孢子,表明 *PnDLC1* 基因在烟草黑胫病菌的孢子发育中发挥作用<sup>[28]</sup>。

(6) *CBEL*。烟草黑胫病菌质外体效应蛋白 *CBEL* (Cellulose-Binding Elicitor Lectin) 位于细胞壁,是一个大小为 34 kDa 的糖蛋白,推测其由两个富含半胱氨酸结构域的直接重复序列组成,这两个重复序列由一个富含 Thr/Pro (脯氨酸) 的区域连接<sup>[29]</sup>。感染试验表明, *CBEL* 沉默后不会大幅影响病原菌致病性,但是在与寄主植物根部接触时会形成聚集性菌丝,表明 *CBEL* 在感知寄主纤维素时起作用,而不是在菌丝聚集时起作用<sup>[29]</sup>。有趣的是, *CBEL* 的缺失与体外乳头状细胞壁增厚的异常形成有关,提示 *CBEL* 参与了疫霉菌细胞壁的沉积<sup>[30]</sup>。试验证明,沉默 *CBEL* 基因会使细胞壁增厚,减少与细胞表面的连接,但是对菌丝生长没有影响,同时对病原菌的致病性也没有明显影响<sup>[30]</sup>。另外,该基因对菌丝细胞壁的结构和对植物细胞表面的粘附是必需的<sup>[30]</sup>。

(7) *PnPMA1*。 *PnPMA1* 克隆于 *P. parasitica* 分离物 Pp016,其蛋白包含 10 个跨膜螺旋和 3 个细胞质结构域,其中蛋白 C 端插入环伸入到细胞外空间<sup>[31]</sup>。 *PnPMA1* 是一个非典型质膜  $H^+$ -ATPase,在孢子生长过程中发挥作用,在病原菌中沉默 *PnPMA1* 基因,会导致无鞭毛和畸形的孢子产生<sup>[31]</sup>。研究者推测 *PnPMA1* 通过影响离子平衡和细胞壁质膜相互作用来调控孢子的生长发育过程<sup>[31]</sup>。

## 4 总结和展望

随着分子生物学技术的迅猛发展,疫霉菌的分子生物学研究取得了飞速发展,尤其在致病疫霉菌和大豆疫霉菌的功能基因组学研究方面进步迅速,成果显著,但相比较而言,引起烟草黑胫病的寄生疫霉菌的分子生物学研究进展缓慢,已经鉴定克隆的基因数量较少,功能基因研究没有深入开展,落后于致病疫霉菌和大豆疫霉菌在这方面的研究。寄生疫霉菌侵染寄主广泛,除侵染烟草引起烟草黑胫病外,还可侵染柑橘、拟南芥和番茄等 200 多种植物,是农林生产中的重要病原菌。相比于寄主范围狭窄的致病疫霉菌(侵染马铃薯和番茄)和大豆疫霉菌(只侵染大豆),寄生疫霉菌的特性研究对疫霉属更有代表性,因此对寄生疫霉菌的研究应更加深入。

烟草黑胫病未来应加强黑胫病病原小种的分子鉴定和功能基因两方面的研究。病原鉴定历来是病害研究的基础,也是难点。国际上黑胫病生理小种虽然明确为 0、1、2、3 四个,以前的研究认为国内烟区的黑胫病生理小种主要为 0 号和 1 号<sup>[32-34]</sup>,但是近几年关于黑胫病生理小种的研究报告很少。过去的鉴定方法多采用传统的生物学鉴定方法,费时费力,且结果不稳定,因此选用分子生物学方法来鉴定黑胫病菌生理小种应是未来重要的研究方向。

烟草黑胫病菌全基因组测序已经完成并公布,但是其基因组中包含的数目庞大的效应因子却一直未得到更深入的鉴定研究,这在一定程度上阻碍了烟草黑胫病菌致病机理的研究。因此,效应因子应成为未来黑胫病研究中的重要内容,包括分离克隆效应因子,鉴定效应因子在烟草体内的作用靶标,构建效应因子与烟草免疫系统相互作用的分子网络,分析这些效应因子在烟草体内的作用方式,从而为解析黑胫病菌的致病机理奠定基础,为烟草分子抗病育种提供理论指导。

## 参考文献

- [1] 王凤龙,周义和,任广伟. 中国烟草病害图鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2019.  
WANG F L, ZHOU Y H, RENG G W. Tobacco diseases in China[M]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 2019.
- [2] MATARI N H, BLAIR J E. A multilocus timescale for oomycete evolution estimated under three distinct molecular clock models[J]. BMC Evol Biol, 2014, 14: 101.
- [3] KRINGS M, TAYLOR T N, DOTALER N. The fossil record of the *Peronosporomycetes* (Oomycota)[J]. Mycologia, 2011, 103: 455-457.

- [4] THINES M, KAMOUN S. Oomycete-plant coevolution: recent advances and future prospects[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13: 427-433.
- [5] FAWKE S, DOUMANE M, SCHORNACK S. Oomycete interactions with plants: infection strategies and resistance principles[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2015, 79: 263-280.
- [6] LATIJNHOUWERS M, de WIT P J, GOVERS F. Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants[J]. *Trends Microbiol*, 2003, 11: 462-469.
- [7] THINES M, GÖKER M, TELLE S, et al. Phylogenetic relationships of graminicolous downy mildews based on *cox2* sequence data[J]. *Mycol Res*, 2008, 112: 345-351.
- [8] HUDSPETH D S S, NADLER S A, HUDEPETH M E S A. COX2 molecular phylogeny of the peronospor oomycetes[J]. *Mycologia*, 2000, 92: 674-684.
- [9] CAVALIERR-SMITH T. Deep phylogeny, ancestral groups and the four ages of life[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2010, 365: 111-132.
- [10] KROON L, BROUWER H, DE COCK AWAM, et al. The genus *Phytophthora* Anno[J]. *Phytopathology*, 2012, 102: 348-364.
- [11] MENG Y L, ZHANG Q, DING W, et al. *Phytophthora parasitica*: a model oomycete plant pathogen[J]. *Mycology*, 2014, 5:43-51.
- [12] AAS 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: 393-398.
- [13] TYLER B M, TRIPATHY S, ZHANG X M, et al. *Phytophthora* genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis[J]. *Science*, 2006, 313: 1261-1266.
- [14] LAMOUR K H, MUDGE J, GOBENA D, et al. Genome sequencing and mapping reveal loss of heterozygosity as a mechanism for rapid adaptation in the vegetable pathogen *Phytophthora capsici*[J]. *MPMI*, 2012, 25: 1350-1360.
- [15] LIU H, MA X, YU H Q, et al. Genomes and virulence difference between two physiological races of *Phytophthora nicotianae*[J]. *GigaScience*, 2016, 5: 3. <https://doi.org/10.1186/s13742-016-0108-7>.
- [16] YUAN X L, FENG C, ZHANG Z F, et al. Complete mitochondrial genome of *Phytophthora nicotianae* and identification for the Oomycetes[J]. *Frontiers in microbiology*, 2017, 8: 1-14.
- [17] LASSITER E S, CARSTEN R, NUSBAUM C, et al. Mitochondrial genome sequences reveal evolutionary relationships of the *Phytophthora* 1c clade species[J]. *Current Genetics*, 2015, 61: 567-577.
- [18] BIRCH P R J, REHMANY A P, PRITCHARD L, et al. Trafficking arms: oomycete effectors enter host plant cells[J]. *Trends in Microbiology*, 2006, 14: 8-11.
- [19] EVANGELISTI E, GOVETTO B, MINET-KEBDANI N, et al. The *Phytophthora parasitica* RXLR effector penetration-specific effector 1 favours *Arabidopsis thaliana* infection by interfering with auxin physiology[J]. *New Phytologist*, 2013, 199: 476-489.
- [20] HUANG G Y, LIU Z R, GU B, et al. An RXLR effector secreted by *Phytophthora parasitica* is a virulence factor and triggers cell death in various plants[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2019, 20(3): 356-371.
- [21] DALIA R J D, MAXIMO H J, OLIVEIRA T S, et al. *Phytophthora parasitica* effector pPRxLR2 suppresses *Nicotiana benthamiana* immunity[J]. *MPMI*, 2018, 31(4): 481-493.
- [22] AXIMO H J, DALIO R J D, DIAS R O, et al. PpCRN7 and PpCRN20 of *Phytophthora parasitica* regulate plant cell death leading to enhancement of host susceptibility[J]. *BMC Plant Biol.*, 2019, 19: 544. doi: 10.1186/s12870-019-2129-8.
- [23] KAMOUN S, KLUCHER K M, COFFEY M D, et al. A gene encoding a host-specific elicitor protein of *Phytophthora parasitica*[J]. *MPMI*, 1993, 6: 573-581.
- [24] FELLBRICH G, ROMANSKI A, VARET A, et al. NPP1, a *Phytophthora*-associated trigger of plant defense in parsley and *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2002, 32: 375-390.
- [25] YAN H Z, LIOU R F. Cloning and analysis of *pppg1*, an inducible endopolygalacturonase gene from the oomycete plant pathogen *Phytophthora parasitica*[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2005, 42: 339-350.
- [26] WU C H, YAN H Z, LIU L F, et al. Functional characterization of a gene family encoding polygalacturonases in *Phytophthora parasitica*[J]. *MPMI*, 2008, 21: 480-489.
- [27] MENG Y L, ZHANG Q, ZHANG M X, et al. The protein disulfide isomerase 1 of *Phytophthora parasitica* (PpPDI1) is associated with the haustoria-like structures and contributes to plant infection[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 632. doi:10.3389/fpls.2015.00632.
- [28] NARAYAN R D, BLACKMAN L M, SHAN W X, et al. *Phytophthora nicotianae* transformants lacking dynein light chain 1 produce non-flagellate zoospores[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2010, 47: 663-671.
- [29] MATEOS F V, RICKAUER M, ESQUERRE-TUGAYE M T. Cloning and characterization of a cDNA encoding an elicitor of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* that shows cellulose-binding and lectin-like activities[J]. *MPMI*, 1997, 10: 1045-1053.
- [30] GAULIN E, JAUNEAU A, VILLALBA F, et al. The CBEL glycoprotein of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* is involved in cell wall deposition and adhesion to cellulosic substrates[J]. *Journal of Cell Science*, 2003, 115: 4565-4575.
- [31] ZHANG M X, MENG Y L, WANG Q H, et al. PnPMA1, an atypical plasma membrane HD-ATPase, is required for zoospore development in *Phytophthora parasitica*[J]. *Fungal Biology*, 2012, 116: 1013-1023.
- [32] 王智发, 刘延荣, 谢成颂, 等. 山东省烟草黑胫病菌生理小种初步鉴定[J]. *植物保护学报*, 1985, 12(1): 51-55.
- WANG Z F, LIU Y R, XIE C S, et al. A preliminary study on identifying races of the black shank pathogen(*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*) in Shandong Province[J]. *Acta Phytopythologica Sinica*, 1985, 12(1): 51-55.
- [33] 朱贤朝, 郭振业, 刘保安. 我国烟草黑胫病菌生理小种研究初报[J]. *中国烟草*, 1987(4): 1-3.
- ZHU X C, GUO Z Y, LIU B A. A preliminary report on the physiological races of tobacco black shank in China[J]. *Chinese Tobacco*, 1987(4): 1-3.
- [34] 梁元存, 刘延荣, 王玉军, 等. 烟草黑胫病菌致病性分化和烟草品种的抗病性差异[J]. *植物保护学报*, 2003, 30(2): 143-147.
- LIANG Y C, LIU Y R, WANG Y J, et al. Pathogenicity differentiation of *Phytophthora parasitica* and the disease resistance difference of tobacco against black shank[J]. *Acta Phytopythologica Sinica*, 2003, 30(2): 143-147.