



植物病原菌效应子

张美祥^{1*}, 杨超^{2*}, 刘俊^{2*}

1. 陕西师范大学生命科学学院, 西安 710119;

2. 中国农业大学植物保护学院, 北京 100193

* 联系人, E-mail: meixiangzhang@snnu.edu.cn; chaoyang@cau.edu.cn; junliu@im.ac.cn

2023-08-02 收稿, 2023-09-06 修回, 2023-09-06 接受, 2023-09-07 网络版发表

国家自然科学基金(32225043, 32072399, 32372483, 32322071)资助

摘要 病原菌在侵染寄主植物过程中分泌多种效应子作为武器, 在胞间或胞质干扰寄主的生物学过程, 以促进病原菌的侵染和定殖. 解析病原菌干扰植物免疫的功能和作用机制是认识病原菌与植物互作的关键, 也可为开发和建立植物病害新型抗病策略提供理论基础. 近年来, 随着测序技术的发展、各种功能基因组学研究方法的建立和结构生物学的发展, 我们对病原菌效应子的特征、数量、转运和功能有了较为深入的认识. 对病原菌效应子功能的认识从抑制寄主免疫信号传导拓展到对植物代谢、微生物组等各种生物学过程的干扰. 同时, 病原菌效应子激活免疫的机制研究取得了突破性的进展, 抗病小体的发现解答了植物NLR抗病蛋白识别效应子后如何激活和介导植物抗性这一科学难题. 本文对近年来病原菌效应子的研究进行了系统的总结和评述, 并对未来效应子的研究进行了展望.

关键词 效应子, 植物免疫, 免疫干扰, 免疫识别, 寄主靶标

植物在生长过程中不断受到各种病原菌的攻击, 这些病原菌常引发毁灭性的植物病害, 给农作物的产量和品质造成重大威胁. 随着化学农药的施用, 粮食安全与环境安全问题日益严峻, 提高和利用植物自身抗病性成为防治植物病害最为经济和环保的措施^[1]. 揭示植物与病原菌互作的机理是认识植物免疫系统和病原菌致病的关键, 也是开发和建立新型植物抗病策略的科学依据.

病原菌与植物的互作过程中, 一方面要克服植物表面的物理屏障, 另一方面还要突破植物的免疫系统, 才能够实现成功侵染. 在此过程中, 病菌保守的分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)往往被植物细胞表面的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别, 激发保守分子模式触发的免疫(PAMP-triggered immunity, PTI). 然而, 很多病原菌可

以分泌效应子(effector)抑制植物的免疫, 引发植物的感病性(effector-triggered susceptibility, ETS), 促进侵染^[2], 而抗性植物则进化出相应的胞内受体(nucleotide-binding leucine-rich repeat receptor, NLR), 识别病原菌的效应子, 从而激发效应子触发的免疫(effector-triggered immunity, ETI). 此时, 病原菌的效应子也常被称为无毒蛋白^[3].

效应子是病原菌分泌的一类蛋白质, 一般在病原菌自身的生长和发育中没有明显作用, 但会在干扰寄主免疫、促进侵染过程中发挥重要作用. 根据效应子分泌后在寄主植物中的定位, 可将其分为胞间效应子(apoplastic effector)和胞质效应子(cytoplasmic effector)^[4]. 以病原菌效应子为切入点, 解析其功能和作用机制是认识植物与病原菌互作的关键. 近年来, 病原菌效应子生物学(effector biology)领域取得了一系列重要

引用格式: 张美祥, 杨超, 刘俊. 植物病原菌效应子. 科学通报, 2023, 68: 4895–4917

Zhang M X, Yang C, Liu J. Research advances of phytopathogen effectors (in Chinese). Chin Sci Bull, 2023, 68: 4895–4917, doi: [10.1360/TB-2023-0788](https://doi.org/10.1360/TB-2023-0788)

的研究进展, 本文对植物病原菌效应子的特征、数量、基因组分布、转运机制、功能和免疫激活机制等方面进行了系统梳理, 同时对未来效应子的研究进行了展望。

1 病原菌效应子的基本特征

病原菌效应子的系统鉴定一直是效应子研究领域的一个难题, 其主要原因是绝大多数效应子序列特征并不显著, 很多效应子蛋白序列缺少与已知功能蛋白的同源性。根据效应子的序列特征、功能和作用机制, 发现了一些病原菌效应子的基本特征。

第一, 效应子中通常含有分泌信号的氨基酸序列, 利用这些序列病原菌将效应子分泌和导入植物细胞。大多数革兰氏阴性病原细菌利用注射器状的Ⅲ型分泌系统(type Ⅲ secretion system, T3SS)将效应子注入到寄主细胞^[5]。病原细菌Ⅲ型效应子的N端通常含有一个介导分泌和转运的序列, 这些序列虽然并不保守, 但具备一些基本特征。例如, 丁香假单胞菌Ⅲ型效应子N端富含丝氨酸(约占17%), 第三位残基通常是脂肪族氨基酸(天冬氨酸或谷氨酸), 并且前10个氨基酸残基中缺乏带负电的氨基酸。利用这些序列特征可以鉴定细菌Ⅲ型效应子^[6]。真菌和卵菌等真核病原菌可利用特化的侵染结构, 如吸器将效应子转运进入寄主细胞^[7]。这些病原菌通常利用经典蛋白分泌途径(conventional protein secretion pathway)或非典型蛋白分泌途径(unconventional protein secretion pathway)将效应子分泌到胞外^[8]。经由经典途径分泌的效应子在序列上通常在N端具有信号肽(signal peptide)序列。目前利用序列分析工具对真核病原菌蛋白信号肽的鉴定已经较为成熟, 如SignalP工具已经广泛用于信号肽的预测分析^[9]。然而, 针对非典型分泌效应子的分泌信号序列鉴定的准确性还有待提高。

第二, 病原菌效应子基因通常位于特殊的基因组位置(genomic context)^[10]。例如, 革兰氏阴性病原细菌Ⅲ型效应子基因通常位于基因组中的Ⅲ型分泌系统编码基因附近, 或成簇分布在“毒力岛(pathogenicity island)”^[11]。这些效应子基因可能通过基因水平转移(horizontal transfer)获得, 其基因序列的GC含量不同于其他基因。

第三, 病原菌效应子基因启动子区通常含有保守的调节元件, 往往在侵染时期被诱导表达^[10]。在许多病原细菌的Ⅲ型效应子基因启动子中存在调控效应子侵

染时特异表达的植物诱导启动子(plant-inducible promoter, PIP-box)和-10基序(-10 motif)。

第四, 病原菌效应子可能具有特殊结构域^[10]。病原细菌的蛋白通常不具有真核生物功能特化的蛋白或结构域, 如果某个病原细菌蛋白中含有真核生物特异的蛋白结构域, 则表明该蛋白可能是效应子。这些效应子通常具有特定的酶学功能, 其主要功能就是进入寄主细胞, 干扰寄主的生理生化或免疫反应(图1)。例如, 青枯劳尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)GALA家族Ⅲ型效应子含有一个真核生物特异的F-box结构域, 含有该结构域的蛋白通常参与26S蛋白酶体介导的蛋白质降解过程^[11]。很多病原细菌的效应子含有真核生物的亚细胞定位信号, 如细胞核定位信号和叶绿体定位信号等, 含有这些特殊结构域的细菌蛋白往往是潜在的效应子^[10]。此外, 一些病原菌效应子具有相似的空间结构。真菌MAX(*Magnaporthe oryzae* avirulence and ToxB-like)效应子间的序列没有相似性, 但都具有类似的空间结构^[12]。泛基因组分析发现, 病原菌的效应子通常受到正向选择(positive selection), 这些特征也可作为效应子鉴定的参考^[13]。

2 病原菌效应子基因的数量

革兰氏阴性病原细菌主要利用Ⅲ型分泌系统分泌的效应子(type Ⅲ secreted effectors, T3SEs)干扰寄主的免疫。这些T3SEs基因通常以成簇的形式分布在基因组或质粒中。目前对病原菌编码T3SEs的数量了解较为准确。病原细菌通常有数十个到上百个效应子, 但不同病原细菌间的T3SEs数量存在较大差异。利用遗传学方法, 在丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)DC3000中逐个敲除T3SEs, 制备多个效应子缺失突变体, 并测试对病原菌致病性的影响, 发现丁香假单胞菌基因组编码30个左右T3SEs^[14]。此外, 也鉴定了水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*)中含有近40个T3SEs^[15]。青枯劳尔氏菌基因组编码的T3SEs比丁香假单胞菌和水稻黄单胞菌多。例如, 青枯劳尔氏菌标准菌株GMI1000基因组至少编码70个T3SEs^[16]。不同于丁香假单胞菌, 青枯劳尔氏菌主要从植物的根部侵染, 引起系统性的维管束病害, 这种侵染特性可能是青枯菌具有较多T3SEs的原因。

不同类型的病原菌含有的效应子数量差异较大, 通常真核病原菌含有的效应子数量较原核病原菌的数量多, 从数百个到上千个不等。目前对真菌效应子的序

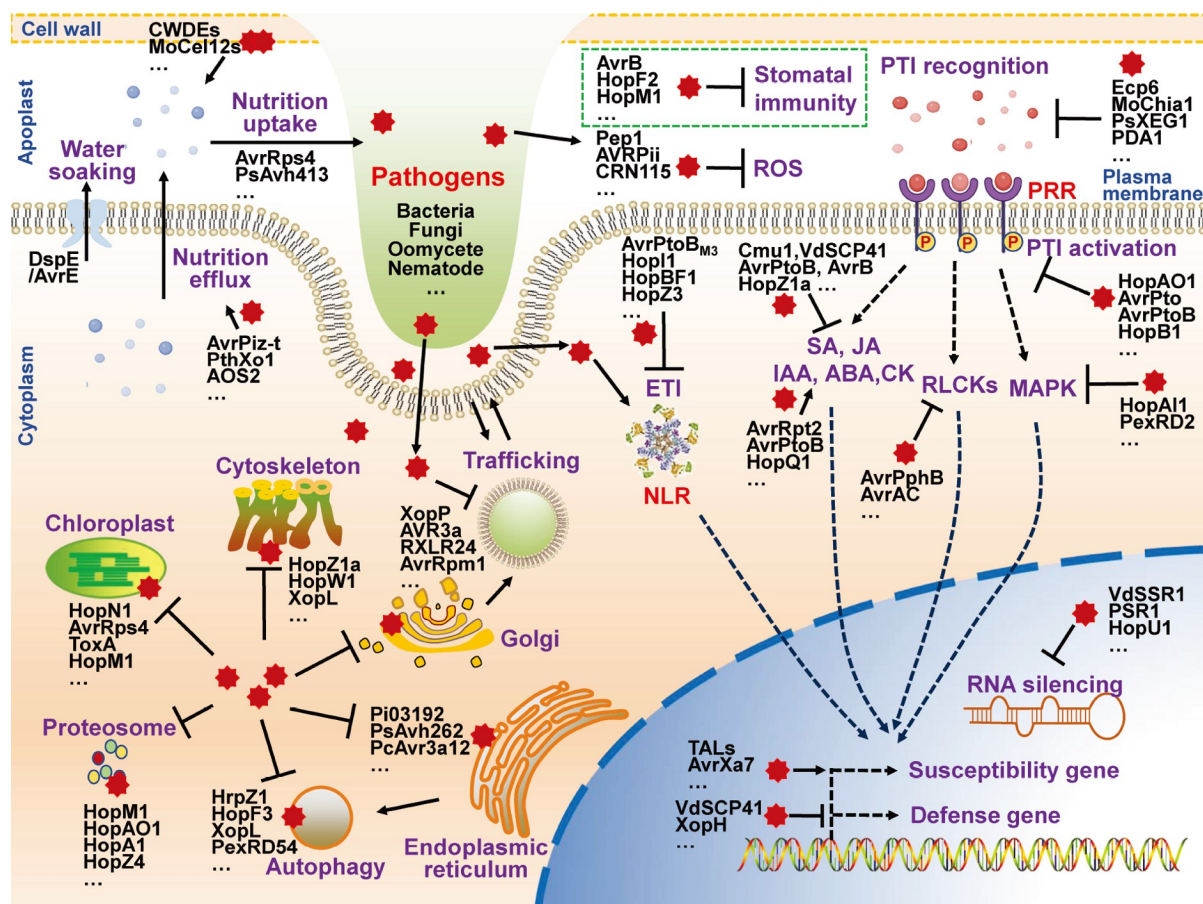


图1 (网络版彩色)病原菌效应子的功能和靶标。病原菌分泌效应子干扰寄主的PTI和ETI, 还可以靶向寄主的多种生理过程, 如气孔运动、蛋白转运、细胞自噬、营养和代谢和基因转录等

Figure 1 (Color online) Targets and functions of pathogen effectors. Pathogens secrete effectors to interfere with host PTI and ETI, as well as other physiological events, such as stomatal movement, protein trafficking, autophagy, nutrition uptake and metabolism, and gene expression

列特征了解还比较有限, 对其效应子的确切数量还缺乏认识。但基于信号肽等序列特征, 可较为准确地预测真菌分泌的效应子。例如, 稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)有863个分泌蛋白在侵染寄主时表达, 其中546个分泌蛋白被预测为稻瘟病菌效应子^[17]。小麦条锈病菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)基因组编码约2092个分泌蛋白, 可聚类成916个家族(family); 而小麦叶锈菌(*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*)和松杨栅锈菌(*Melampsora larici-populina*)基因组则分别编码1459和1178个分泌蛋白^[18]。这3种锈菌间仅有341个分泌蛋白家族显示了保守性, 而62%的条锈菌分泌蛋白具有种系特异性(lineage-specific)。此外, 条锈菌中92%的分泌蛋白与其他真菌, 如玉米瘤黑粉病菌(*Ustilago maydis*)、大麦白粉病菌(*Blumeria graminis*)、稻瘟病菌和小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)等非锈菌病原真菌的分泌蛋

白没有直系同源物(orthologue)。

目前对真核的病原卵菌效应子的了解主要集中在两类胞内效应子——RXLR和CRN效应子。致病疫霉菌(*Phytophthora infestans*)基因组编码约563个RXLR效应子和196个CRN效应子^[19], 而同属的大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)基因组分别编码约350个RXLR效应子和100个CRN效应子^[20], 致病疫霉菌的效应子在数量上较其他疫霉菌存在明显扩张^[19]。此外, 同种病原菌的效应子之间存在较大的序列多样性, 不同疫霉之间的效应子序列差异也较大, 仅有部分存在保守性。这些具有保守性的效应子被认为是核心效应子(core effector), 对病原菌的致病性至关重要^[21]。

未来通过泛基因组分析(pan-genomic analysis), 我们将会进一步明确病原菌的超级效应子库(super-effector repertoire), 这些信息不仅可以帮助确定核心效应子

和可变效应子(variable effector),同时可为病原菌的寄主范围决定因子(host range determination)提供线索。

3 病原菌效应子的转运

很多病原菌的效应子进入寄主细胞内干扰寄主免疫、生长发育和代谢等。革兰氏阴性病原细菌主要利用T3SS将效应子转运到植物细胞。T3SS是一个类似注射器形状的蛋白复合体,是由20多个膜结构蛋白和转运蛋白组成的跨细菌内外膜、细胞外间隙和寄主细胞膜的环状中空管道^[22]。T3SS从细菌延伸到寄主细胞分别为ATP酶复合体(ATPase complex)、C环、分泌装置(export apparatus)、基体(basal body)、针状复合体(needle complex)、末端复合体(tip complex)和转运孔(translocator pore)^[23]。细菌T3SEs除了含有N端介导分泌的信号序列,通常还有一个分子伴侣结合结构域(chaperone binding domain),负责与相应的T3SS分子伴侣结合。T3SEs通过T3SS转运进入寄主细胞的过程需要T3SEs自身的分泌信号序列和(或)伴侣蛋白的辅助,同时受到T3SS的调控^[24]。

真核病原微生物效应子进入寄主细胞的机制一直未得到完全阐明,但近年来取得了一些重要进展。病原菌效应子的蛋白序列中发现了负责转运的信号。例如,Dou等人^[25]的研究表明,卵菌RXLR效应子的RXLR-dEER保守基序可以介导效应子转运进入植物细胞。2010年,Kale等人^[26]发现,除了卵菌RXLR效应子中含有RXLR基序,有些真菌效应子中也含有类似基序,并且RXLR基序可以与寄主细胞质膜外侧的磷脂酰肌醇三磷酸(phosphatidylinositol-3-phosphate, PI3P)结合。效应子与PI3P结合后,经由脂筏介导的内吞作用(lipid raft-mediated endocytosis)进入植物细胞。尽管后续的研究指出,其他结构域可能也参与介导卵菌RXLR效应子转运,即RXLR基序不一定是效应子转运必需的^[27],但膜上的磷脂信号在病原菌与寄主互作中发挥重要作用已经得到了充分证明^[28-30]。除了RXLR保守基序,在真核病原微生物效应子中还鉴定到一些蛋白基序也可能参与了效应子转运,如卵菌CRN效应子蛋白N端的KFLAK基序以及白锈菌(*Albugo laibachii*)中的CHXC基序等,然而这些蛋白基序介导效应子进入植物细胞的机制还不清楚^[31]。最近,病原真菌稻瘟菌和卵菌致病疫霉菌的效应子转运研究取得了重要进展,发现寄主网格蛋白介导的内吞过程是这些真核病原菌效应子转运进入寄主细胞的主要途径之一^[32,33]。

4 病原菌效应子的功能和作用机制

病原菌效应子的核心功能是抑制植物免疫,促进其自身的侵染。然而,越来越多的证据表明,除了干扰寄主的免疫过程,病原菌还可利用效应子干扰植物的多种生理过程,如气孔运动、蛋白转运、细胞自噬、营养和代谢、基因转录和微生物组等(图1)。目前,部分病原菌效应子的生化功能和作用机制得到了解析(表1)。

4.1 病原菌效应子抑制寄主PTI

效应子的一个核心功能是抑制植物免疫,诱导植物感病性^[3]。越来越多的证据表明,病原菌可以采用多种策略克服寄主PRRs介导的免疫,即对PTI的抑制。效应子对PTI的抑制主要包括抑制PRRs的激活以及激活后的信号传递。PTI激活通常需要PRRs的磷酸化,而丁香假单胞菌效应子AvrPto抑制细菌鞭毛蛋白识别受体FLS2的磷酸化^[64]。丁香假单胞菌的另一个效应子AvrPtoB则具有泛素连接酶的活性,可以直接靶向FLS2和EFR等PRRs,导致这些受体蛋白的降解^[34,35]。Xu等人^[36]也发现,AvrPtoB可以靶向植物凝集素(lectin)家族的PRRs,引发这些受体的降解。此外,一些效应子,如HopAO1具有磷酸酶的活性,可以对激活的PRRs进行去磷酸化。Macho等人^[39]和Luo等人^[40]分别发现,HopAO1可以对EFR和LORE进行特异位点的去磷酸化,抑制这些受体介导的免疫。

此外,效应子还可以干扰PRRs对PAMPs的识别,如稻瘟菌效应子MoChia1具有几丁质结合活性,可以结合几丁质以阻止其被受体OsCERK1识别^[65]。相似地,番茄叶霉病分泌Ecp6(extracellular protein 6)结合几丁质片段,阻断其与寄主植物受体蛋白的结合,从而阻止寄主的识别^[66]。除了阻止受体和配体的结合,Gao等人^[67]发现,大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)分泌的效应子PDA1(polysaccharide deacetylase 1)可对几丁质进行去乙酰化,去乙酰化的几丁质与CERK1受体结合能力下降,从而削弱其被受体的识别。

除了直接干扰寄主植物的模式识别,病原菌还可以利用效应子攻击膜上受体复合物的其他组分,干扰免疫信号传导过程抑制植物防卫反应,其中免疫蛋白BAK1是FLS2和EFR等多个PRRs的共受体,在PTI激活中具有重要的作用。然而,真菌和细菌均可以分泌效应子干扰BAK1的功能,阻止其介导的信号传递^[68-70]。此

表 1 部分代表性病原菌效应子和它们在植物中的靶标

Table 1 The representative effectors and their targets in plants

效应子	物种	生化活性	靶标	文献
AvrPtoB	<i>P. syringae</i>	E3泛素连接酶	FLS2/EFR/BAK1/CERK1/NPR1/RIN4/EXO70B1	[34~37]
AvrPto	<i>P. syringae</i>	蛋白激酶抑制剂	FLS2/EFR/BAK1/RIN4	[38]
HopAO1	<i>P. syringae</i>	蛋白磷酸酶	EFR/LORE	[39,40]
AvrAC	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	尿苷5'-单磷酸转移酶	BIK1/RIPK	[41]
AvrRpt2	<i>P. syringae</i>	半胱氨酸蛋白酶	RIN4	[42]
HopN1	<i>P. syringae</i>	半胱氨酸蛋白酶	PsbQ	[43]
AvrPphB	<i>P. syringae</i>	半胱氨酸蛋白酶	PBS1/BIK1/PBL1	[44]
PopP2	<i>R. solanacearum</i>	乙酰转移酶	WRKY转录因子	[45]
HopZ1a	<i>P. syringae</i>	乙酰转移酶	MKK7/JAZ/tubulin/ABR1	[46~49]
HopAI1	<i>P. syringae</i>	磷酸苏氨酸裂解酶	MPK3/MPK4/MPK6	[50]
AvrRpm1	<i>P. syringae</i>	ADP-核糖基转移酶	RIN4	[51]
HopU1	<i>P. syringae</i>	单ADP-核糖基转移酶	GRP7/GRP8	[52]
HopQ1	<i>P. syringae</i>	核苷水解酶	细胞分裂素合成/14-3-3蛋白	[53,54]
XopD	<i>X. euvesicatoria</i>	SUMO蛋白酶	SIERF4	[55]
PthXo1	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	转录激活因子	OsSWEET11	[56]
Avr2	<i>C. fulvum</i>	蛋白酶抑制剂	PIP1/RCR3	[57]
EPIC1	<i>P. infestans</i>	蛋白酶抑制剂	PIP1/RCR3	[58]
PSR1	<i>P. sojae</i>	基因沉默抑制子	PINP1	[59]
PSR2	<i>P. sojae</i>	模拟蛋白磷酸酶	PP2A	[60]
AvrPiz-t	<i>M. oryzae</i>	模拟Ca ²⁺ 传感器	APIP6/RIP1/CatB/OsAKT1/OsCATC	[61~63]

外, PTI的激活依赖于下游的信号传递, 特别是MAPK级联途径和WRKY转录因子等, 这些下游的信号也是很多效应子的作用靶标。例如, 丁香假单胞菌效应子HopAI1可以引起MPK3和MPK6的去磷酸化, 阻断MAPK介导的下游免疫反应^[50]。PTI激活后对病菌侵染的抑制很大程度上依赖于活性氧(reactive oxygen species, ROS), 植物中负责产生胞外活性氧的主要是NADPH氧化酶。PTI激活过程中, PRR受体复合物磷酸化胞内类受体蛋白激酶(receptor-like cytoplasmic kinase, RLCK), 如BIK1和PBLs等, 这些RLCKs进一步磷酸化激活NADPH氧化酶RbohD, 促进活性氧的生成^[71,72]。而丁香假单胞菌和辣椒疫霉菌可利用效应子靶向包括BIK1在内的多个RLCKs, 阻止其磷酸化, 从而抑制RLCKs介导的活性氧迸发等免疫反应^[44,73]。此外, 玉米黑粉病菌效应子Pep1(protein essential during penetration-1)和稻瘟菌AVR-Pii等可以通过不同方式降低寄主细胞活性氧的积累^[74,75]。

4.2 病原菌效应子抑制寄主ETI

病原菌自身效应子的突变规避ETI激活或进化出新的效应子抑制ETI是其突破抗病蛋白识别的关键, 也是抗病品种抗性丧失的主要原因^[76]。研究发现, 很多病原菌效应子可以抑制其他效应子触发的超敏反应(hypersensitive response, HR)。例如, 丁香假单胞菌效应子AvrPtoB_{M3}和HopI1可抑制多个T3SE诱导的HR, 其中AvrPtoB_{M3}可强烈抑制AvrE1、HopM1、HopR1、HopAM1和HopAD1在本氏烟植物(*Nicotiana benthamiana*)上诱导的HR, 而HopI1可强烈抑制AvrE1、HopM1、HopQ1-1、HopR1和HopAM1诱导的HR^[77]。

病原菌抑制寄主ETI通常不是直接靶向植物的NLR抗病蛋白, 而是通过干扰ETI一些免疫信号转导组分的功能发挥作用。RAR1-SGT1-HSP90分子伴侣复合物在植物NLR抗病蛋白触发的免疫中发挥重要作用, 其主要作用是辅助NLR蛋白的激活^[78], 而丁香假单胞

菌效应子HopBF1可以模拟寄主HSP90的“客户蛋白”(client),并磷酸化HSP90,抑制其ATPase活性,从而阻止NLR抗病蛋白的激活^[79]。SGT1是本氏烟识别青枯菌效应子RipAA、RipE1和RipP1并激活免疫所必需的,而效应子RipAC可抑制植物中SGT1与RAR1的互作,并干扰MAPK对SGT1的磷酸化,从而抑制RipAA、RipE1和RipP1触发的免疫^[80,81]。此外,免疫蛋白NDR1在NLR抗病蛋白激活中发挥重要作用,大豆疫霉菌则利用效应子Avh241干扰大豆中NDR1的二聚化,进而抑制ETI^[82]。

胞内类受体蛋白激酶(RLCK)在植物PTI和ETI中均发挥重要功能^[83]。病原菌效应子可靶向该家族成员,干扰寄主免疫^[44]。例如,丁香假单胞菌效应子AvrPphB可靶向多个RLCK家族成员。当AvrPphB靶向BIK1、PBL1和PBL2等RLCK时,可有效抑制寄主PTI^[44];而当其靶向RIPK时,则抑制NLR抗病蛋白RPM1介导的ETI^[84]。此外,MAPK级联途径是PTI和ETI下游一个重要的组分。丁香假单胞菌效应子HopZ1a可靶向拟南芥MKK7,乙酰化其发挥蛋白激酶活性必需的赖氨酸残基,阻断MKK7介导的免疫信号传导,从而同时抑制寄主的PTI和ETI^[47]。

病原菌效应子抑制寄主ETI的另一机制是直接靶向触发植物免疫的病原菌效应子。例如,丁香假单胞菌效应子HopZ3可以与AvrRpm1和AvrB3互作并乙酰化这两个效应子,抑制这两个效应子触发的NLR抗病蛋白RPM1的激活^[85]。水稻黄单胞菌效应子XopQ在水稻细胞核中与XopX互作,触发水稻免疫^[86],但效应子XopG可通过与XopQ和XopX互作,将二者挟持在植物细胞质中,抑制这两个效应子触发的植物免疫^[87]。可见,病原菌效应子可以采用多种机制实现对植物ETI的抑制。

4.3 病原菌效应子干扰寄主气孔免疫

气孔由两个保卫细胞构成,其开闭受许多途径和信号调控,如受体、激酶、离子通道和次级信使等。气孔不仅是植物和外界气体交换和水分散发的场所,也是很多细菌和真菌进入叶片组织的主要通道。在感知病原菌入侵后,植物会主动关闭气孔以阻止病原菌的入侵。然而,病原菌发展出多种策略打开气孔^[88]。植物在感受到病原菌入侵后关闭气孔是一种重要免疫反应,也被称为气孔免疫(stomatal immunity)。Melotto等人^[89]发现,细菌入侵约1 h即引起植物气孔关闭,其中ROS信

号可能是引起气孔关闭的关键因素。很多病原菌效应子参与对气孔开闭的调控。拟南芥免疫蛋白RIN4(RPM1-interacting protein 4)与保卫细胞的质膜H⁺-ATPase互作,增强其活性,促进气孔开放,而丁香假单胞菌效应子AvrB通过促进蛋白激酶RIPK对RIN4特定位点的磷酸化促进气孔开放,帮助病原菌进入叶片组织^[90,91]。丁香假单胞菌的其他效应子也可靶向气孔,如HopF2可抑制气孔免疫^[92]。而效应子HopM1可靶向AtMIN10/GRF8并破坏其功能,阻止其介导的气孔关闭^[93]。此外,黄单胞菌属的效应子也能抑制气孔关闭。研究发现,Xoo的效应子XopR导入拟南芥中可阻止PTI引起的气孔关闭^[94]。水稻细菌性条斑病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, Xoc)和野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, Xcv)的效应子XopC2和XopS可分别阻止水稻和拟南芥的气孔关闭,但其直接靶标还不是十分清楚^[95,96]。有意思的是,Liu等人^[97]发现,Xoc的效应子XopAP结合膜脂,抑制其介导的液泡酸化,从而导致气孔开放。

尽管气孔免疫在早期寄主阻止病原菌的入侵中十分重要,但气孔的长时间关闭也会导致叶片“水渍化”的出现,而“水渍化”有利于病原菌的增殖。丁香假单胞菌效应子AvrE作用于寄主一个蛋白磷酸酶家族的蛋白TOPP(Type One Protein Phosphatases),促进ABA积累和气孔关闭,从而引发叶片的“水渍化”^[98]。叶片的“水渍化”可能是病原菌在质外体获得丰富营养的一个途径。Gentzel等人^[99]发现,玉米细菌性枯萎病菌(*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*)的AvrE家族效应子WtsE也可引起玉米叶片的“水渍化”,并导致质外体中的营养富集。最新的一项研究显示,AvrE/DspE家族的效应子实际上可以在植物细胞膜上形成一个通道,使得植物细胞内小分子通过该通道渗透到质外体中,解答了病菌侵染后形成“水渍状”的原因(Duke大学何胜洋实验室结果, <https://doi.org/10.1101/2023.07.29.547699>)。实际上,HopM1是最早发现可引起拟南芥叶片“水渍化”的效应子^[98],但HopM1也可阻止拟南芥气孔的关闭^[93],因此HopM1可能在病原菌侵染的不同阶段扮演不同的角色。由于气孔在病菌入侵中的重要作用,研究植物如何调控气孔运动以阻止病菌的入侵具有重要意义。

4.4 病原菌效应子干扰植物激素信号途径

植物激素参与了植物的生长发育、环境胁迫和病原菌响应等多个生理过程。在众多植物激素中,水杨酸

和茉莉酸在植物抵御病原菌侵染过程中具有重要作用,其中水杨酸主要参与对活体和半活体病原菌的响应,而茉莉酸主要应对死体营养病原菌和植食性害虫。植物水杨酸与茉莉酸信号途径多数情况下是相互拮抗的,这一特性也被一些病原菌所利用。很多半活体细菌分泌冠菌素(coronatine)以激活茉莉酸信号,从而抑制水杨酸信号,促进其侵染。水杨酸和茉莉酸由于在植物抗病过程中的关键作用,因而也成为了很多病原菌效应子的靶标。

水杨酸的合成主要由分支酸(chorismate)经异分支酸合成酶(isochorismate synthase, ICS1)催化合成异分支酸(isochorismate)进而产生。玉米黑粉菌(*Ustilago maydis*)效应子Cmu1具有分支酸变位酶(chorismate mutase)活性,催化分支酸向苯丙酸类化合物转化,降低水杨酸的合成,从而抑制水杨酸介导的免疫^[100]。水杨酸的合成受两个紧密相关的转录因子CBP60g和SARD1调控,它们结合到ICS1基因的启动子正向调控水杨酸合成。研究发现,大丽轮枝菌效应子VdSCP41靶向拟南芥的CBP60g和SARD1,削弱CBP60g的转录活性^[101]。NPR1是水杨酸的受体,水杨酸处理下NPR1进入细胞核调控一系列水杨酸响应基因的表达,因此缺失NPR1的植物呈现出对病原菌的高度敏感性。NPR1也是病原菌效应子的重要靶标。丁香假单胞菌效应子AvrPtoB具有E3泛素连接酶活性,水杨酸会促进其与NPR1的互作,介导NPR1的降解,抑制水杨酸途径激活^[102]。

茉莉酸合成和信号传递也被众多病原菌的效应子所靶向。茉莉酸的受体COI1与JAZs蛋白互作,抑制茉莉酸信号的激活。当茉莉酸存在时,JAZs被泛素化降解,释放下游转录因子,如MYC2,以激活茉莉酸依赖的免疫基因表达。丁香假单胞菌效应子AvrB可引起茉莉酸信号激活,该过程依赖于MPK4级联途径以及HSP90等的参与^[103]。而辣椒疮痂病菌(*Xanthomonas campestris*)的效应子XopH则抑制MYC2的表达,干扰茉莉酸信号^[104]。对于很多植物而言,水杨酸信号途径的抑制有利于活体与半活体营养病原菌的侵染,而茉莉酸信号的激活则会抑制水杨酸信号。半活体丁香假单胞菌效应子HopZ1a可直接与大豆和拟南芥中的JAZ蛋白互作。HopZ1a具有乙酰转移酶活性,可乙酰化JAZ蛋白,促进JAZ降解,进而激活茉莉酸信号^[46]。

病原菌效应子也可靶向和干扰其他激素途径。生长素含量的提高会增强拟南芥对丁香假单胞菌的敏感性。丁香假单胞菌效应子AvrRpt2可通过提高拟南芥的

生长素水平和降解生长素信号关键负调控蛋白Aux/IAA,激活生长素信号途径,促进丁香假单胞菌侵染^[105,106]。脱落酸(ABA)信号通路关键元件也是病原菌的一个常见靶标。外源施加ABA增加了拟南芥对丁香假单胞菌的感病性。效应子AvrPtoB可靶向植物ABA羟化的代谢关键蛋白CYP707A1和CYP2,并泛素化降解这两个蛋白,造成活性ABA的积累,因而增强了转基因植株对丁香假单胞菌的感病性^[107]。此外,丁香假单胞菌效应子HopZ1a可操控拟南芥转录抑制子ABR1(ABA repressor1),提高拟南芥对病原菌的感病性^[49]。丁香假单胞菌效应子HopQ1具有核苷水解酶活性,通过剪切细胞分裂素前体分子氨基嘌呤核苷(aminopurine riboside)产生活性细胞分裂素,激活细胞分裂素信号通路,抑制植物免疫^[53]。此外,油菜素内酯和乙烯信号途径也可分别被马铃薯晚疫病菌的效应子AVR2和大豆疫霉菌的效应子PsAvh238所干扰^[108,109]。因此可以看出,病原菌可以分泌效应子靶向寄主多种激素通路,干扰其合成或信号途径,促进病原菌的侵染。

4.5 病原菌效应子干扰寄主细胞的蛋白转运

分泌蛋白需要通过囊泡(vesicles)的形式运输到胞外或细胞膜上,因此蛋白的转运对于细胞膜上的受体和外泌的抗病相关蛋白至关重要。蛋白的向外转运主要依赖于内质网对蛋白的组装和修饰,在内体(endosome)到反式高尔基体网络(trans-Golgi network)(TGN/EE)的作用下,蛋白被分拣和包装到囊泡中,运送到质膜。在这一过程中小GTP酶(GTPase)介导了囊泡的形成、成长、定位和融合,并进一步在SNAREs蛋白和外泌复合物(exocyst)的作用下进行分泌。蛋白转运的另一个方向是质膜的内吞,它在网格蛋白包裹的囊泡下从质膜内陷形成,并最终在液泡中降解。蛋白转运是细胞膜上的免疫受体以及胞外免疫蛋白积累的主要方式,因此在植物抵御病原菌入侵中具有重要作用,同时也成为病原菌效应子的作用靶标。例如,病程相关蛋白PR1的分泌需要GTPase家族的蛋白Rab8和Rab11参与,而免疫受体蛋白FLS2激活后的清除需要内吞介导的蛋白降解途径^[110]。研究发现,效应子几乎作用于蛋白运输的每一个步骤,致病疫霉菌效应子RXLR24可与GTPase家族的蛋白Rab11互作,干扰囊泡的形成和PR1的分泌^[111]。细菌的效应子AvrPtoB、RipE1和XopP则靶向向外泌体复合物,干扰囊泡向质膜的融合,其中Exo70亚基是主要作用靶标^[112]。Exo70B1被这些效应子降解

或下调表达,干扰了如PRR蛋白或胼胝质的累积。此外,丁香假单胞菌效应子AvrRpm1与AvrRpt2可以修饰质膜定位的RIN4,阻止Exo70向质膜的定位,因而干扰免疫相关蛋白的运输^[51,113]。而致病疫霉菌效应子PexRD31与SNARE蛋白互作,造成囊泡积累在胞内,不能向质膜融合,从而阻止了蛋白的运输^[114]。

病原菌效应子也作用于寄主内吞过程。很多PRR的稳态维持需要组成型的内吞过程,或者通过内吞的方式清除激活的PRR并循环利用。致病疫霉菌效应子AVR3a是第一个被报道的影响PRR内吞的效应子,Avr3a可减少激活后的FLS2内吞进而抑制FLS2介导的免疫^[115]。此外,丁香假单胞菌效应子HopM1作用于TGN/EE定位的蛋白MIN7。MIN7具有广谱的抗病作用,主要是通过控制参与免疫相关物质的运输和促进胼胝质的积累,而HopM1促进MIN7的降解,从而削弱植物免疫^[116]。

4.6 病原菌效应子干扰寄主细胞自噬

细胞自噬(autophagy)是生物体细胞清除不需要的蛋白、细胞器以及外源病原菌的一种方式,是病原菌作用的一个重要靶标途径。自噬途径中一类重要的蛋白是ATG(autophagy-related)蛋白,其中ATG8蛋白与各种自噬受体互作,靶向特定蛋白、细胞器或病原体,形成自噬小体,并将其送往液泡降解。利用酵母双杂交技术对25个拟南芥中的ATG蛋白和来自5种不同病原物,包括细菌、真菌、卵菌和线虫的共184个效应子进行相互作用分析,发现了88个互作,其中ATG8是与这些效应子互作的主要蛋白^[117]。进一步的研究发现,在这些互作中,效应子HrpZ1与除ATG8c和ATG8e外的所有ATG8蛋白互作,而HopF3与除ATG8c与ATG8g外的所有ATG8蛋白互作。但是,这两个效应子引发了不同的自噬过程。HrpZ1促进ATG4介导的ATG8剪切从而增加自噬,而HopF3则抑制自噬。此外,丁香假单胞菌效应子AvrPtoB/AvrPto与ATG1a互作,降低其磷酸化,且病原菌的致病性部分依赖于寄主细胞的自噬过程^[117]。这些结果说明,不同的效应子操纵了寄主细胞不同的自噬过程,以不同的方式促进病原菌侵染。

细胞自噬参与的植物免疫可能与不同病原菌及其侵染方式有关,细胞自噬的激活或抑制均可能决定植物的抗病性。例如,柑橘黄龙病菌(*Candidatus Liberibacter*)效应子SDE3降解ATG8家族蛋白,抑制寄主细胞自噬,从而削弱柑橘免疫^[118]。有意思的是,该病原菌效

应子SDE4405也与ATG8家族蛋白互作,激活寄主细胞自噬过程,从而抑制柑橘免疫^[119]。相似地,野油菜黄单胞菌效应子XopL与自噬受体的组分SH3P2互作并利用其E3泛素连接酶活性介导SH3P2降解,进而抑制细胞自噬,促进侵染^[120]。此外,大麦条纹花叶病毒γb蛋白与ATG7互作,抑制寄主自噬^[121]。而线虫效应子NMA1则靶向ATG8家族蛋白,并依赖细胞自噬促进线虫的入侵^[122]。另外一个值得关注的效应子来自致病疫霉菌的PexRD54,它可以与马铃薯的ATG8CL互作,促进自噬小体的形成。PexRD54与自噬受体Joka2竞争与ATG8CL互作,并干扰Joka2介导的防卫反应^[123]。PexRD54促进的自噬不同于Joka2,前者模拟了营养缺乏引发的自噬,后者是免疫引发的自噬。因此,致病疫霉菌进化出了PexRD54这样的效应子来规避寄主免疫相关自噬,同时又促进营养自噬,这可能对于病原菌克服寄主免疫并促进其营养吸收具有重要意义^[124]。细胞自噬作为生物体最基本同时也是最重要的生理活动之一,在植物与病原菌互作中扮演重要的角色,目前的研究只发现了少数的效应子靶向寄主自噬途径的案例。Lal等人^[117]的研究揭示了病原菌效应子靶向寄主自噬具有普遍性,这些效应子如何干扰寄主细胞自噬以促进侵染值得未来进一步深入研究。

4.7 病原菌效应子调控寄主营养物质的运输和代谢

病原菌需要从寄主获得营养才能完成定殖和侵染。植物的主要代谢物,包括糖类、氨基酸、有机酸和磷酸化合物等,除了能调节自身的生长和免疫,还是病原菌重要的营养资源^[125,126]。以往研究表明,真菌侵染会引起植物叶片质外体多种糖类成分和含量的变化^[127]。此外,病原菌侵染也会导致质外体包含大多数氨基酸在内的氮源水平的提升^[128,129]。这说明病原菌在侵染时可能会通过独特的机制来操纵植物代谢,进而提高其定殖空间的碳氮等营养物质的含量来维持其侵染和增殖的需求,而病原菌效应子可能是其操纵植物代谢的一种重要方式。

糖类是病原菌获取碳源的一个最主要的营养来源,不同类型的病原菌有它们喜好的糖类型。当植物胞外的糖类不适合病原菌吸收时,病菌可以利用分泌的效应子把这些糖转化成可被它们利用的糖分。例如,大豆疫霉菌胞间效应子PsXEG1把寄主细胞壁中的木葡聚糖降解为可被病原菌吸收的单糖^[130]。海藻糖是大豆疫霉生长和侵染所必需的碳源,但植物自身的海藻糖含

量极其低。最近的研究发现,大豆疫霉菌效应子PsAvh413可以直接靶向大豆海藻糖磷酸合酶GmTPS6,并提高其活性来促进寄主体内海藻糖的积累,进而大豆疫霉菌直接与寄主竞争这些营养物质,促进自身侵染和生长^[131]。病原菌还能利用效应子增强植物细胞中 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)的产生。在植物细胞中,谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GAD)被钙调蛋白(calmodulin)激活并催化产生GABA。研究发现,青枯劳尔氏菌分泌一个效应子RipI进入植物细胞与GAD互作,增强其与钙调蛋白的相互作用,促进了GABA的产生,并利用其作为自身增殖的营养来源^[132]。最新研究发现,*V. dahliae*通过SUMO(small ubiquitin-like modifier)特异蛋白酶VdUlpB(ubiquitin-like modifier(SUMO)-specific protease)与糖酵解酶VdEno(*V. dahliae* enolase)直接互作来操控植物的糖酵解代谢。VdUlpB能够去除VdEno蛋白的SUMO化修饰,促进该蛋白在细胞质的积累并行使其糖酵解的功能,促进*V. dahliae*的致病性^[133]。

无论是细菌还是真菌,它们侵染植物后都定殖在质外体中,而质外体并不是植物营养产生的场所。病原菌不仅可以利用效应子调控植物营养代谢物的产生,还能利用其促进植物营养代谢物向质外体的运输。糖类的运输和再分配被特异的糖转运蛋白控制,其中SWEETs主要介导了葡萄糖和蔗糖的跨细胞膜转运^[134]。最早发现水稻白叶枯病菌中的TAL(transcription activator-like)效应子PthXo1可直接结合*OsSWEET11*基因的启动子并促进其表达,最终促进了病原菌的侵染^[56]。进一步研究发现,效应子AvrXa7、PthXo3、TalC和Tal5均可以启动*OsSWEET14*的表达^[135],表明黄单胞菌通过效应子靶向*SWEET*基因来促进糖类外流,从而获取营养促进其增殖和侵染。除细菌外,水稻纹枯菌(*Rhizoctonia solani*)效应子AOS2可与WRKY53和GT1(grassy tiller1)互作,并协同激活水稻己糖转运基因*SWEET2a*和*SWEET3a*的表达,最终导致水稻质外体己糖的积累^[136]。除了糖类转运,研究还发现,玉米细菌性枯萎病菌(*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*)在侵染早期通过分泌AvrE家族的效应子WtsE来驱动水分和氨基酸以及糖类代谢物在植物质外体的积累^[99]。

除了有机营养物质,病原菌还会和寄主竞争矿质元素来帮助其侵染和生长。硫是半胱氨酸和铁硫蛋白等众多有机物合成过程的重要元素。研究发现,PTI的激活会诱导植物硫吸收蛋白相关基因上调表达,激发

“硫饥饿”来阻止病原菌对硫的获取^[137]。但这一策略也可被病原菌效应子干扰,如水稻细菌性条斑病菌TAL效应子Tal2g靶向并激活水稻硫转运基因*OsSULTR3;6*的表达,进而促进植株对硫的吸收,导致病菌侵染能力增强^[138]。稻瘟菌效应子AvrPiz-t直接靶向水稻钾通道蛋白OsAKT1,抑制其介导的钾离子内流并促进病菌侵染^[62]。铁是最重要的微量元素。研究发现,丁香假单胞菌效应子AvrRps4直接靶向植物的铁代谢途径,通过与关键铁调控蛋白BTS互作来影响下游铁信号转录因子的稳定性,进而促进了植物对铁的大量吸收,病菌则得以在质外体中截留铁^[139]。铜元素一般会抑制病菌的生长,水稻白叶枯菌分泌的TAL效应子PthXo1可以激活水稻感病基因*Xa13*,而*Xa13*与铜转运蛋白COPT1和COPT5协同调控了铜元素从木质部导管向外的转运,降低了铜在木质部对病菌的毒害作用^[140,141]。

植物受到病菌侵染后会诱导产生很多次生代谢产物,这些代谢物既能作为生化壁垒抵御病原物入侵,还可以作为信号物质激发植物免疫。除了有机营养物质和矿质元素,病原菌也会利用效应子操纵这些代谢途径来促进侵染。苯丙烷类代谢是植物次生代谢的一条重要途径,直接或间接产生了植物所有的含苯丙烷骨架的物质,如木质素、植保素、黄酮类物质等,这些物质在植物生长发育和抗病反应过程中发挥着重要作用。丁香假单胞菌效应子HopZ1直接与大豆异黄酮生物合成酶GmHIDI互作并使之降解,抑制了细胞中异黄酮的产生,从而促进病原菌对大豆的侵染^[142]。稻潜根线虫(*Hirschmanniella oryzae*)分泌效应子HoCM和HoICM抑制苯丙烷类物质的生物合成来促进其侵染^[143]。青枯劳尔氏菌效应子RipN具有ADP-核糖/NADP焦磷酸化酶的活性,它能改变植物细胞NADH/NAD⁺的比例,抑制宿主的PTI反应^[144]。丁香假单胞菌也利用效应子HopAM1把NAD⁺水解成一类新型的环腺苷二磷酸核糖v2-cADPR来破坏植物的NAD⁺代谢通路,进而抑制植物免疫并提高自身毒性^[145]。此外,甲硫氨酸是许多代谢物的合成前体,包括激素乙烯。丁香假单胞菌效应子HopAF1能靶向拟南芥甲硫氨酸代谢通路,抑制其甲硫腺苷核苷酶MTN1和MTN2酶活性,减少乙烯的合成^[146]。

4.8 病原菌效应子干扰寄主基因沉默途径和基因表达

RNA介导的基因沉默(RNA interference, RNAi)是

植物抵抗病毒入侵的一种保守策略,因此也是病毒效应子攻击的重要靶点之一。RNAi广泛参与植物对病原菌的抗性调控,因此成为多种病原菌的作用靶标。AGO(Argonaute)蛋白是加工产生miRNA的一个主要蛋白。芜菁皱纹病毒(turnip crinkle virus)蛋白P38的GW残基直接结合拟南芥AGO1,干扰RNAi途径^[147]。由于真菌是在植物体外中增殖的,植物抗真菌侵染的一个策略是将siRNA导入真菌细胞中干扰真菌致病基因表达^[148]。Zhu等人^[149]发现,大丽轮枝菌效应子VdSSR1可进入植物细胞核抑制siRNA和AGO1-miRNA的出核,从而导致细胞质中AGO1和siRNA的水平降低,削弱了将抗菌相关的siRNA向大丽轮枝菌中运送。相似地,拟南芥中的PINP1蛋白调控miRNA和siRNA的积累,而大豆疫霉菌效应子PSR1则与PINP1(PSR1-interacting protein 1)互作,干扰寄主RNAi^[59]。大豆疫霉菌PSR2则可直接抑制植物中特定的次级siRNA的生成,降低其跨界RNAi作用^[150]。

mRNA前体的可变剪接可以增加基因转录和蛋白表达的多样性。Huang等人^[151]发现,致病疫霉菌侵染时抑制了免疫正调控基因的可变剪切,促进了免疫负调控基因的可变剪切过程。研究发现,致病疫霉菌中至少有9个剪切调控效应子(SREs)参与了对寄主前体RNA可变剪切的干扰,表明病原菌效应子可通过干扰mRNA前体的可变剪切影响寄主的抗病性。丁香假单胞菌效应子HopU1可靶向结合GRP7蛋白,干扰其对FLS2和EFR的翻译调控。GRP7是一个RNA结合蛋白,可结合FLS2和EFR的转录产物,而HopU1阻止GRP7与这些基因转录产物的结合,造成后者不能有效翻译^[52]。病原菌效应子也可对NLR基因表达进行调控,如水稻白叶枯病菌效应子XopQ可诱导Osa-miR1876的表达,而Osa-miR1876可能介导NLR编码基因NBS8R的5'-UTR甲基化修饰抑制其表达,从而抑制其介导的免疫^[152]。核糖体是细胞蛋白质合成的机器,由核糖体RNA(rRNA)及数十种核糖体蛋白组成。小麦白粉病菌效应子CSEP0064/BEC1054结合到核糖体,抑制茉莉酸(MeJA)依赖的寄主核糖体rRNA的降解^[153]。有意思的是,甜菜囊肿线虫(*Heterodera schachtii*)效应子32E03也可影响rRNA的表达。少量的32E03会抑制rRNA表达,促进线虫入侵;而大量的32E03则激发了rDNA特异的sRNA生成,并引起RNA介导的DNA甲基化以及rDNA的沉默,限制线虫的入侵^[154]。由此可见,病原菌的效应子不仅能够影响寄主基因的沉默和跨界RNA干

扰,还影响RNA前体的剪切、蛋白表达调控以及核糖体的功能。

4.9 病原菌效应子靶向寄主细胞器干扰植物免疫

4.9.1 效应子影响细胞骨架的组装和解聚

细胞骨架是真核细胞中的蛋白纤维网络结构,是细胞维持形态的重要细胞器。细胞骨架由微管(microtubule)、微丝(microfilament)及中间纤维(intermediate filament)组成。细胞骨架参与多种生理过程,包括细胞分裂和伸长、细胞极性的建立和动力蛋白形成、内吞和囊泡运输等,同时参与基因表达调控和免疫响应。丁香假单胞菌效应子HopZ1a与微管异源二聚体互作并乙酰化微管蛋白,促进微管进一步聚合,导致肌动蛋白丝与胞质微管的逐渐解聚,进而破坏了分泌途径和抑制了细胞壁介导的防卫反应^[48,155]。丁香假单胞菌的另一个效应子HopW1在植物中表达时与肌动蛋白形成复合物,破坏细胞骨架并抑制内吞和囊泡运输过程,其C末端结构域HopW1-C可以直接在体外扰乱F-肌动蛋白结构^[156]。其他病原菌分泌的效应子也可靶向寄主细胞骨架,如野油菜黄单胞菌效应子XopL具备E3泛素连接酶活性,干扰微管相关的stromule的排列,并抑制stromule的伸长;而其酶活突变体特异定位于微管,表明微管可能是XopL抑制免疫的靶标^[157]。此外,近期的研究发现,线虫的效应子也会引起细胞骨架的解聚。如根结线虫分泌的MiPFN3(*Meloidogyne incognita* Profilin 3)蛋白结合肌动蛋白单体,破坏其多聚化,干扰微丝网络形成^[158]。

4.9.2 效应子干扰叶绿体的生理功能

叶绿体不仅是植物的光合细胞器,同时还是抗病激素水杨酸合成的关键部位,因此也是病原菌效应子攻击的重要靶点。丁香假单胞菌的核心效应子中有近10个定位于寄主的叶绿体,其中HopI1结合寄主热激蛋白Hsp70,引起内囊体结构的改变,降低了水杨酸的积累^[159]。效应子HopN1具有半胱氨酸蛋白酶活性,抑制寄主ROS和胍胍质的积累及细胞死亡。HopN1进入植物细胞后,定位于内囊体膜,与光系统II(PSII)上的蛋白PsbQ互作并导致其降解,干扰光合电子传递链和氧的生成,从而降低了叶绿体ROS的产生^[43]。此外,丁香假单胞菌效应子AvrRps4/HopK1以及HopM1、HopO1-2等也作用于植物叶绿体,抑制ROS产生和PTI反应。相似地,真菌或卵菌的效应子也可靶向植物的叶绿体,如专性寄生的葡萄霜霉病菌(*Plasmopara viticola*)有4个效

效应子定位于植物叶绿体; 腐生菌 *Pyrenophora tritici-repentis* 效应子 ToxA 靶向植物叶绿体蛋白 ToxABP1, 降低光合系统 PSI 和 PSII 的丰度而诱导 ROS 的大量积累, 进而导致植物细胞坏死^[160,161]。可见, 病原菌众多效应子可靶向植物叶绿体, 干扰其生理功能和抑制其介导的免疫反应。

4.9.3 效应子干扰寄主内质网介导的免疫

内质网是真核生物蛋白合成、加工组装和分泌的重要细胞器。内质网在生物和非生物胁迫下会快速做出反应, 降低蛋白的从头合成或上调非折叠蛋白响应 (unfolded protein response, UPR), 从而维持蛋白的稳态。内质网是很多免疫相关蛋白合成的场所, 如细胞膜上的 PRRs 以及分泌到胞外的抗病相关蛋白等。环境胁迫会导致内质网上定位的一些转录因子, 如 NAC 转录因子释放进入细胞核, 调控相关基因的表达。Meng 等人^[162]发现, 稻瘟菌侵染会引起水稻内质网破坏, 导致内质网定位的免疫负调控蛋白 NAC 转录因子随之降解, 从而激活水稻免疫, 但是效应子是否参与了这一过程需要进一步研究。相似地, 致病疫霉菌培养液可激发本氏烟细胞内质网定位的 NAC 转录因子 NTP1 和 NTP2 入核, 激活免疫反应, 但致病疫霉菌效应子 Pi03192 可阻止 NTP1 和 NTP2 入核, 进而降低本氏烟对致病疫霉的抗性^[163]。当内质网受胁迫的程度超过了其可以调节的范围, 就会主动或被动触发细胞死亡。例如, 内质网上蛋白 BiPs 的降解会引发内质网胁迫激活的细胞死亡, 但是大豆寄生疫霉的效应子 PsAvh262 稳定 BiPs, 阻止细胞坏死, 进而促进病原菌在大豆上的定殖^[164]。然而, 适度的内质网胁迫可增强植物免疫。Fan 等人^[165]发现, 内质网定位的 FKBP15-2 蛋白具有肽基脯氨酰顺反异构酶 (PPIase) 活性, 且该活性正调植物对辣椒疫霉 (*Phytophthora capsici*) 的抗性, 但辣椒疫霉分泌的效应子 PcAvr3a12 靶向并抑制 FKBP15-2 的酶活性, 从而抑制内质网胁迫介导的植物免疫。因此, 内质网在植物免疫中发挥重要作用, 研究病原菌效应子与寄主细胞内质网间的互作关系可以帮助我们更好地了解内质网在植物免疫中的作用。

4.9.4 效应子干扰或挟持寄主 26S 蛋白酶体抑制植物免疫

26S 蛋白酶体是一种多亚基的蛋白复合物, 含有多酶, 其介导蛋白降解依赖于底物的泛素化。26S 蛋白酶体所介导的蛋白降解在免疫识别、受体积累和下游防卫信号的激活中发挥重要调控功能, 如蛋白酶

体亚基 RPT2a 和 RPN12a 缺失增加了植物对丁香假单胞菌的感病性。许多丁香假单胞菌效应子, 如 HopM1、HopAO1、HopA1 和 HopG1 靶向寄主蛋白酶体, 抑制其活性^[166]。此外, 丁香假单胞菌效应子 HopZ4 与植物蛋白酶体亚基 RPT6 互作, 抑制蛋白酶体活性。RPT6 参与蛋白酶体的组装, HopZ4 可能是与 RPT6 互作, 干预寄主蛋白酶体功能, 进而抑制其活性^[167]。26S 蛋白酶体的主要功能是对泛素化的蛋白进行降解, 许多病原菌效应子模拟了寄主泛素化过程, 并利用这一过程攻击寄主免疫蛋白。丁香假单胞菌效应子 AvrPtoB 可靶向水杨酸受体 NPR1, 并经由其 26S 蛋白酶体介导的降解^[102]。可见, 病原菌不仅进化出利用效应子直接干扰寄主 26S 蛋白酶体的功能, 还可分泌效应子泛素化寄主免疫相关蛋白, 利用寄主 26S 蛋白酶体介导这些蛋白的降解, 从而抑制寄主免疫。

4.9.5 效应子改变寄主胞间连丝的通透性

胞间连丝是细胞和细胞间物质和信息交换的通道, 近期的研究发现多种病原菌的效应子通过寄主胞间连丝向邻近细胞转运。例如, Li 等人^[168]发现, 丁香假单胞菌的 16 个效应子可通过胞间连丝转运。植物胞间连丝的闭合或堵塞会限制病菌的进一步入侵, 阻止病原菌效应子在寄主细胞间转移, 其中一种重要的调节方式是促进胞间连丝中的胼胝质沉积。研究发现, 尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 效应子 Avr2 定位于寄主胞间连丝, 通过扩张胞间连丝的孔径以增加其透性^[169]。丁香假单胞菌效应子 HopO1-1 也定位于寄主胞间连丝并调节其通透性^[170]。因此, PTI 引起的胼胝质沉积并堵塞胞间连丝可能是其限制病原菌效应子扩散的有效方式, 而病原菌则可利用效应子抑制胼胝质的积累来帮助效应子在寄主细胞间扩散。

4.10 病原菌效应子重塑寄主微生物组

植物生长环境中存在不止一种与其互作的微生物, 这些微生物形成了植物的微生物组 (microbiome)。近年来的研究表明, 微生物组在保护寄主免受病原菌侵染过程中发挥重要作用^[171]。植物可通过分泌次生代谢物决定根际和叶际微生物组的组成, 以抑制病原菌的入侵。有意思的是, 有研究表明病原菌可通过分泌特殊的效应子操纵寄主微生物组, 以帮助其侵染^[172]。

病菌对其生存环境中微生物组的影响可通过分泌干扰其他病菌生长的效应子实现。研究发现, 大丽轮枝菌可利用效应子 VdAve1 和 VdAMP2 调控寄主微生物

组^[173]。VdAve1具有抗菌活性,可抑制寄主周围的拮抗菌来操纵植物的微生物组,帮助其定殖;而大丽轮枝菌还可向土壤中分泌VdAMP2,帮助其在土壤中获得生存优势,对病原菌入侵寄主起到了间接作用^[173]。最近的研究也发现,VdAve1的同源蛋白VdAve1L2也具有抗菌活性,但是其拮抗谱和VdAve1不同,VdAve1L2主要抑制寄主微生物菌群中的放线菌^[174]。此外,大丽轮枝菌在侵染后期还分泌一个进化上古老的效应子VdAMP3来抑制植物微生物菌群中的有益菌。有意思的是,VdAMP3主要拮抗那些阻止大丽轮枝菌侵染的真菌^[175]。这些结果表明大丽轮枝菌在侵染的不同阶段使用不同的效应子来操纵寄主微生物组,从而促进其侵染。

病原菌还可利用效应子靶向寄主的代谢途径来调控寄主微生物组。植物组织中的多胺是一类富含氨基的小分子化合物,通常参与植物对微生物的防御反应。青枯劳尔氏菌效应子Brg11可靶向寄主多胺合成途径中的精氨酸脱羧酶(ADC)基因并激活其表达,促进多胺的大量合成;而Brg11诱导的多胺合成对青枯劳尔氏菌的生长没有影响,却抑制了丁香假单胞菌的生长^[176]。这些发现表明病原菌效应子可通过靶向寄主代谢相关基因,诱使其分泌抑生物质限制其他微生物的生长,从而提高该病菌在整个微生物群落中的竞争力。

4.11 效应子促进共生

除了病原菌利用效应子来抑制寄主免疫促进侵染,根瘤菌或者丛枝菌根等有益微生物也可以采用类似的机制向植物细胞分泌效应子来协调它们与植物之间的共生关系。以根瘤菌为例,其分泌的蛋白被命名为NOPs(nodulation outer proteins)^[177]。目前被鉴定的根瘤菌效应子主要也是T3SS分泌的,大部分在共生中具有正调控作用。NOPs除了促进共生信号的产生,还抑制宿主的免疫反应^[177]。

根瘤菌NGR234分泌的效应子NopM蛋白具有E3泛素连接酶活性,能在植物中抑制MAPK途径和ROS的产生,进而促进NGR234在扁豆(*Lablab purpureus*)根瘤中的共生^[178]。而效应子NopT具有半胱氨酸蛋白酶活性,通过抑制植物的MAPK途径等方式促进NGR234与灰毛豆的共生^[179,180]。NopL作为一个具有多磷酸化位点的根瘤菌特异效应子,能够抑制植物MAPK途径和防卫基因的表达。NopL既能促进NGR234在与百脉根的共生中增加结瘤数量,也能在NGR234与菜豆的共生

中延迟根瘤衰老^[181~183]。NopP也是根瘤菌特异的效应子,其可被寄主蛋白磷酸化,并且正调控NGR234与非洲山毛豆和千斤拔共生中结瘤的产生^[184]。最新研究发现,大豆可以通过GmRj2/Rfg1蛋白识别不同根瘤菌的NopP,从而实现不同地区大豆对共生菌的选择,为“因地制宜”地选育适应不同土壤类型的大豆品种奠定了理论基础^[185]。此外,一些根瘤菌的效应子也能被植物NLR蛋白识别激发免疫来抑制共生反应,如大豆慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium elkanii*)效应子BEL2-5和百脉根根瘤菌(*Bradyrhizobium japonicum*)效应子Mlr6361被寄主NLR识别激发ETI反应^[186,187]。

有关效应子在丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)与植物共生的作用研究开展较晚。研究表明,丛枝菌根内球囊霉(*Rhizophagus irregularis*)和巨孢囊霉(*Gigaspora rosea*)分别含有872和2633个效应子,其中丛枝菌根内球囊霉效应子SP7可以进入苜蓿(*Medicago truncatula*)细胞核并抑制转录因子ERF19和防卫基因的表达^[188]。另一个效应子RiNLE1则直接进入苜蓿细胞核与组蛋白H2B结合并抑制其被降解,进而抑制寄主防卫基因的表达,促进丛枝菌根的定殖^[189]。此外,通过构建共生菌印度梨形孢(*Serendipita indica*)分泌的106个效应子与其寄主蛋白的互作图谱,发现这些效应子与植物的激素信号传导紧密关联,表明共生菌效应子可能通过靶向激素信号途径促进植物生长^[190]。

4.12 病原菌效应子触发植物免疫

1946年Harold Flor提出“基因对基因”假说(gene-for-gene hypothesis),认为植物品种特异抗病性依赖于植物抗病基因(R)和与之对应的无毒基因(Avr)互作关系,只有寄主植物中携带有特定的抗病基因并且病原菌中存在对应的无毒基因时,植物才表现出抗性^[191]。随着基因组测序和分子生物学技术的进步,越来越多的植物抗病基因被克隆。植物的抗病蛋白通常具有典型的NB-LRR结构域,即含有核苷酸结合位点(nucleotide binding site, NBS)和亮氨酸富集重复(leucine-rich repeat, LRR)结构域^[192]。目前把这类蛋白统一称为NLR。拟南芥基因组编码近150个NLR蛋白,水稻和番茄基因组编码400个左右NLR^[193]。根据其蛋白N端结构域的不同,NLR分为具有CC(coiled coil)结构域的CNL、具有TIR(toll interleukin-1 receptor)结构域的TNL和具有RPW8结构域的RNL三类。其中,CNL和TNL主要作为侦测性NLR(sensor NLR)感知病原菌,而

RNL主要作为辅助型NLR(helper NLR)在sensor NLR下游发挥作用。NLR蛋白类似一个“分子开关”，在感受到病原菌侵染后启动植物免疫；而在没有病原菌的情况下，则抑制其活性，避免组成型激活对植物生长发育造成不良影响^[194]。

植物抗病蛋白与病原菌效应子的识别可分为直接识别和间接识别两种。直接识别即抗病蛋白直接与效应子互作，导致抗病蛋白的构象变化从而激活免疫^[3]。例如，亚麻的抗病蛋白LRR结构域直接结合亚麻锈菌AvrL567，导致抗病蛋白激活^[195]。另一种抗病蛋白与效应子直接识别模式是植物“抗病蛋白对”(R protein pair)对病原菌效应子的识别。拟南芥抗病蛋白对RPS4/RRS1介导了对丁香假单胞菌效应子AvrRps4和青枯劳尔氏菌PopP2效应子的识别。在没有病原菌侵染的情况下，RPS4的TIR结构域与RRS1的TIR结构域相互作用，使抗病蛋白RPS4/RRS1处于失活状态；当病原菌效应子存在时，AvrRps4或PopP2与RRS1的羧基端中与WRKY转录因子同源的DNA结合结构域结合，激活RPS4/RRS1。RRS1羧基端的WRKY结构域模拟了病原菌效应子的靶标WRKY转录因子，也被称为integrated decoy(ID)结构域，抗病蛋白识别效应子的这种方式也被称为整合诱饵模型(integrated decoy model)^[45,196]。在整合诱饵模型提出后，研究者又相继鉴定了数个新的ID结构域，如水稻NLR蛋白RGA5和Pik-1中的RATX1/HMA结构域^[197]、杨树和水稻NLR蛋白的BED结构域等^[198]。NLR-IDs的广泛分布表明植物利用NLR多样化的进化机制来扩大其识别能力。

抗病蛋白与效应子的间接识别是指抗病蛋白识别植物中的中间介体蛋白，进而触发免疫。病原菌效应子与植物中间介体蛋白结合后，导致中间介体蛋白的降解或翻译后修饰，进而引发了抗病蛋白的构象改变，导致抗病蛋白的激活^[3]。根据中间介体蛋白在植物基础防卫中是否发挥功能，中间介体蛋白又被分别定义为“警戒子”(guard)或“诱饵”(decoy)。当中间介体蛋白在植物基础防卫中发挥功能时，其被定义为“警戒子”；当中间介体蛋白在基础防卫中没有明确功能时，其功能是模拟了病原菌效应子的靶标，此时被称为“诱饵”。因此，抗病蛋白间接识别效应子的方式分别被称为“防卫学说”(guard hypothesis)和“诱饵模式”(decoy model)^[199]。拟南芥中的RIN4蛋白就是一个典型的“警戒蛋白”，该蛋白负调控植物的基础防卫^[90,91]。丁香假单胞菌效应子AvrRpm1和AvrB进入植物细胞后可诱导RIN4的磷酸

化，RIN4的磷酸化导致NLR蛋白RPM1的构象变化，进而激活免疫^[200]。而丁香假单胞菌的另一个效应子AvrRpt2则通过切割RIN4，抗病蛋白RPS2感受到RIN4被剪切后激活免疫^[200]。

丁香假单胞菌效应子AvrPphB激活抗病蛋白RPS5的模式则为典型的“诱饵模型”。PBS1是一个胞内类受体激酶，在植物基础防卫中没有显著的功能^[44]，但在介导NLR蛋白RPS5激活中发挥“诱饵”作用。AvrPphB具有半胱氨酸蛋白酶活性，可以与植物中胞内类受体蛋白激酶PBS1互作并对其进行切割。在没有病原菌侵染时，PBS1与RPS5形成复合体，使抗病蛋白RPS5处于非激活状态，而当PBS1被病原菌AvrPphB切割后，导致PBS1的蛋白构象变化，从而激活RPS5，触发免疫^[201]。利用RPS5的激活原理，可人为将PBS1中的AvrPphB切割位点替换成其他病原细菌和病毒效应子的切割位点，实现了RPS5对多个病原菌效应子的识别，表明对寄主诱饵蛋白的修饰可拓展NLR抗病蛋白识别的范围^[202]。

病原菌效应子被抗病蛋白识别后，抗病蛋白是如何被激活的一直是植物抗病研究领域未解之谜。在研究NLR激活机制时发现NLR蛋白的CC或TIR结构域的寡聚化对诱导HR和免疫至关重要^[203,204]，但其作用机理一直未得到解析。关于抗病蛋白与病原菌效应子分子识别的一个里程碑性的进展是植物抗病小体(resistosome)的发现。2019年，清华大学柴继杰团队、中国科学院遗传与发育生物学研究所周俭民团队和清华大学王宏伟团队联合，在*Science*上报导了植物抗病小体的发现以及其三维结构和组装的分子机制^[205,206]。抗病小体是指病原菌效应子激活NLR抗病蛋白后，抗病蛋白与其他免疫组分一起形成的蛋白复合体。ZAR1是一个CNL。周俭民团队发现植物利用“诱饵”PBL2感知黄单胞菌效应子AvrAC^[207]。当病原菌AvrAC进入植物细胞后对PBL2进行UMP化修饰，PBL2^{UMP}被招募到ZAR1-RKS1复合体中形成ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP}三元免疫受体复合物。抗病小体通过ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP}复合体的五聚化形成“风火轮”状结构^[205,206]。病原菌效应子AvrAC并不在抗病小体中，其主要功能就是促进抗病小体的形成，激活免疫。通过对抗病小体的蛋白解析发现，抗病小体中所有ZAR1的蛋白N端 α 螺旋均向上升起，在抗病小体中央形成一个漏斗状结构，后经证实该结构可作为一个钙离子通道发挥功能，激活植物免疫^[208]。随后，清华大学柴继杰团队与德国马普研究所合作，证明卵菌效应子ATR1激活TNL抗病蛋白RPP1

后, RPP1也形成抗病小体发挥功能. 与CNL不同的是, TNL抗病小体是四聚化的结构, 并且TNL形成的抗病小体不是以离子通道形式发挥作用, 而是作为一个NAD⁺裂解酶发挥功能^[209]. *Science*同期发表了美国加州大学伯克利分校Brian Staskawicz实验室关于黄单胞菌XopQ激活TNL蛋白ROQ1后, ROQ1四聚化形成抗病小体的结果^[210]. 美国北卡罗来纳教堂山分校Jeffery Dangl实验室发现, RNL蛋白NRG1.1也可以形成抗病小体, 并与ZAR1抗病小体类似, NRG1.1抗病小体具有钙离子通道活性^[211]. 除了在模式植物拟南芥和本氏烟中报道了植物抗病小体, 最近柴继杰团队与多个团队合作, 发现小麦秆锈菌效应子AvrSr35激活小麦CNL抗病蛋白Sr35后, Sr35也形成类似拟南芥ZAR1的抗病小体结构, 表明NLR抗病蛋白激活后形成抗病小体是一种进化上保守的机制, 为今后基于蛋白结构的NLR定向设计提供了科学依据^[212].

5 总结与展望

过去近30年植物病原菌效应子的研究取得了令人瞩目的进展. 对病原菌效应子功能的认识从抑制寄主PTI、ETI和激素抗病信号等途径, 扩展到干扰植物营养代谢、气孔运动、基因表达、蛋白转运和微生物菌群等各种生命过程, 对病原菌效应子的功能认识更为全面和系统. 对病原菌效应子被寄主识别的分子机理的认识从遗传上的“基因对基因”假说, 上升到了抗病小体与效应子分子识别机制, 不仅明确了抗病蛋白与效应子识别的直接识别和间接识别模式, 在病原菌效应子激活抗病蛋白的机制方面也有了突破性的进展. 抗病蛋白激活后, 无论是CNL还是TNL, 均通过在植物细胞质膜上形成抗病小体发挥功能. 抗病小体的发现为抗病蛋白的定向设计和利用提供了重要参考.

未来对病原菌效应子功能和作用机制的研究, 已从单独解析效应子的功能和作用机制, 向系统全面解析效应子的作用模式、靶标以及效应子之间的相互作用发展, 这为全面认识病原菌的致病机制提供了新的方向. 病原菌在侵染寄主植物过程中, 通常将多个效应子同时导入到寄主细胞, 这些效应子往往不是“单兵作战”, 而是协同作用调控寄主的各种生命过程. 如通过大规模蛋白互作分析, 系统建立了丁香假单胞菌和寄生霜霉菌(*Hyaloperonospora arabidopsidis*)效应子与寄主拟南芥蛋白之间的互作网络, 发现两种不同类型的病原菌可以靶向寄主中的共同节点蛋白

(hub), 这些节点蛋白通常可以与其他蛋白形成复杂的互作网络^[213], 病原菌靶向这些寄主蛋白可能起到“四两拨千斤”的作用. 同时, 该研究进一步表明不同病原菌可能采取类似的机制干扰寄主的免疫. 今后在各种不同病原菌中开展效应子之间的互作以及建立它们与寄主之间的蛋白互作网络, 有望深入解析病原菌与寄主互作的机制, 提升对病原菌与寄主互作整体框架的认识.

病原菌效应子在序列上通常缺少与已知功能蛋白保守的结构域, 这给效应子的功能和作用机制研究带来了挑战. 随着蛋白质三维结构解析技术, 如冷冻电子显微镜技术的进步和基于人工智能技术的蛋白质三维结构分析技术AlphaFold2的发展, 效应子三维结构的解析将会给病原菌效应子的功能和作用机制研究以及基于结构的功能改造带来新的契机. 如水稻NLR蛋白RGA5的C端含有一个整合结构域HMA, 可以识别稻瘟病MAX效应子AVR1-CO39. 基于RGA5与稻瘟菌MAX效应子的三维结构, 对RGA5的HMA结构域进行定向突变, 实现了其对本来不能识别的MAX效应子AvrPib的识别, 改造后的RGA2可以有效提高水稻对含有AvrPib效应子的稻瘟菌的抗性^[214]. 可见, 效应子蛋白结构的解析不仅有助于解答其抑制寄主免疫的机制, 还为抗病基因的定向设计和改造提供了强有力的支撑. 利用AlphaFold2对病原菌效应子的三维结构进行系统分析, 可望为解析未知病原菌效应子的功能和作用机制提供新线索.

随着基因组学和功能基因组学的研究越来越深入, 建立一个能够包含物种全部基因组序列和变异信息情况的完整集合对基因组学的研究至关重要. 加拿大多伦多大学David Guttman教授团队^[215]利用泛基因组学的方法揭示了寄主和动态变化的病原菌效应子之间互作的全景图. 他们利用对来自28个国家100多个寄主植物的494个丁香假单胞菌株基因组进行比对分析, 并将这些菌株的效应子分为70个家族和89个亚家族, 最终筛选出丁香假单胞菌529个代表性效应子. 进一步研究发现, 这529个III型效应子中的59个可以在拟南芥激发免疫. 这项研究为发现丁香假单胞菌潜在的寄主, 以及植物与病原菌互作的遗传基础提供了新的认识. 因此, 泛基因组可以获取准确全面的效应子变异信息, 通过与表型关联, 可为病原菌效应子的发现和抗病基因的鉴定和利用提供线索, 是未来效应子研究的另一个重要方向.

参考文献

- 1 Zhang J, Dong S M, Wang W, et al. Plant immunity and sustainable control of pests in China: Advances, opportunities and challenges (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2019, 49: 1479–1507 [张杰, 董莎萌, 王伟, 等. 植物免疫研究与抗病虫绿色防控: 进展、机遇与挑战. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49: 1479–1507]
- 2 Dou D, Zhou J M. Phytopathogen effectors subverting host immunity: Different foes, similar battleground. *Cell Host Microbe*, 2012, 12: 484–495
- 3 Jones J D G, Dangl J L. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444: 323–329
- 4 Kamoun S. A catalogue of the effector secretome of plant pathogenic oomycetes. *Annu Rev Phytopathol*, 2006, 44: 41–60
- 5 Tampakaki A P, Fadoulglou V E, Gazi A D, et al. Conserved features of type III secretion. *Cell Microbiol*, 2004, 6: 805–816
- 6 Guttman D S, Vinatzer B A, Sarkar S F, et al. A functional screen for the type III (Hrp) secretome of the plant pathogen *Pseudomonas syringae*. *Science*, 2002, 295: 1722–1726
- 7 Lo Presti L, Kahmann R. How filamentous plant pathogen effectors are translocated to host cells. *Curr Opin Plant Biol*, 2017, 38: 19–24
- 8 Giraldo M C, Dagdas Y F, Gupta Y K, et al. Two distinct secretion systems facilitate tissue invasion by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Nat Commun*, 2013, 4: 1996
- 9 Teufel F, Almagro Armenteros J J, Johansen A R, et al. SignalP 6.0 predicts all five types of signal peptides using protein language models. *Nat Biotechnol*, 2022, 40: 1023–1025
- 10 Zhao Z, Hu Y, Hu Y, et al. Features and algorithms: Facilitating investigation of secreted effectors in Gram-negative bacteria. *Trends Microbiol*, 2023, doi: 10.1016/j.tim.2023.1005.1011
- 11 Angot A, Peeters N, Lechner E, et al. *Ralstonia solanacearum* requires F-box-like domain-containing type III effectors to promote disease on several host plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 14620–14625
- 12 de Guillen K, Ortiz-Vallejo D, Gracy J, et al. Structure analysis uncovers a highly diverse but structurally conserved effector family in phytopathogenic fungi. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1005228
- 13 Syme R A, Tan K C, Rybak K, et al. Pan-*Parastagonospora* comparative genome analysis-effector prediction and genome evolution. *Genome Biol Evol*, 2018, 10: 2443–2457
- 14 Wei H L, Chakravarthy S, Mathieu J, et al. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 type III secretion effector polymutants reveal an interplay between HopAD1 and AvrPtoB. *Cell Host Microbe*, 2015, 17: 752–762
- 15 Long J, Song C, Yan F, et al. Non-TAL effectors from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* suppress peptidoglycan-triggered MAPK activation in rice. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1857
- 16 Yu G, Derkacheva M, Rufian J S, et al. The *Arabidopsis* E3 ubiquitin ligase PUB4 regulates BIK1 and is targeted by a bacterial type-III effector. *EMBO J*, 2022, 41: e107257
- 17 Yan X, Tang B, Ryder L S, et al. The transcriptional landscape of plant infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* reveals distinct families of temporally co-regulated and structurally conserved effectors. *Plant Cell*, 2023, 35: 1360–1385
- 18 Zheng W, Huang L, Huang J, et al. High genome heterozygosity and endemic genetic recombination in the wheat stripe rust fungus. *Nat Commun*, 2013, 4: 2673
- 19 Haas B J, Kamoun S, Zody M C, et al. Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Nature*, 2009, 461: 393–398
- 20 Tyler B M, Tripathy S, Zhang X, et al. *Phytophthora* genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis. *Science*, 2006, 313: 1261–1266
- 21 Chepsergon J, Motaung T E, Moleleki L N. “Core” RxLR effectors in phytopathogenic oomycetes: A promising way to breeding for durable resistance in plants? *Virulence*, 2021, 12: 1921–1935
- 22 Portaliou A G, Tsois K C, Loos M S, et al. Type III secretion: Building and operating a remarkable nanomachine. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41: 175–189
- 23 Galán J E, Lara-Tejero M, Marlovits T C, et al. Bacterial type III secretion systems: Specialized nanomachines for protein delivery into target cells. *Annu Rev Microbiol*, 2014, 68: 415–438
- 24 Wagner S, Grin I, Malmshiemer S, et al. Bacterial type III secretion systems: A complex device for the delivery of bacterial effector proteins into eukaryotic host cells. *FEMS Microbiol Lett*, 2018, 365: fny201
- 25 Dou D, Kale S D, Wang X, et al. RXLR-mediated entry of *Phytophthora sojae* effector *Avr1b* into soybean cells does not require pathogen-encoded machinery. *Plant Cell*, 2008, 20: 1930–1947
- 26 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. *Cell*, 2010, 142: 284–295

- 27 Wawra S, Trusch F, Matena A, et al. The RxLR motif of the host targeting effector AVR3a of *Phytophthora infestans* is cleaved before secretion. *Plant Cell*, 2017, 29: 1184–1195
- 28 Lu S, Chen L, Tao K, et al. Intracellular and extracellular phosphatidylinositol 3-phosphate produced by phytophthora species is important for infection. *Mol Plant*, 2013, 6: 1592–1604
- 29 Helliwell E E, Lafayette P, Kronmiller B N, et al. Transgenic soybeans expressing phosphatidylinositol-3-phosphate-binding proteins show enhanced resistance against the oomycete pathogen *Phytophthora sojae*. *Front Microbiol*, 2022, 13: 923281
- 30 Bhattacharjee S, Stahelin R V, Speicher K D, et al. Endoplasmic reticulum PI(3)P lipid binding targets malaria proteins to the host cell. *Cell*, 2012, 148: 201–212
- 31 Kale S D. Oomycete and fungal effector entry, a microbial Trojan horse. *New Phytol*, 2012, 193: 874–881
- 32 Oliveira-Garcia E, Tamang T M, Park J, et al. Clathrin-mediated endocytosis facilitates the internalization of *Magnaporthe oryzae* effectors into rice cells. *Plant Cell*, 2023, 35: 2527–2551
- 33 Wang H, Wang S, Wang W, et al. Uptake of oomycete RXLR effectors into host cells by clathrin-mediated endocytosis. *Plant Cell*, 2023, 35: 2504–2526
- 34 Gimenez-Ibanez S, Hann D R, Ntoukakis V, et al. AvrPtoB targets the LysM receptor kinase CERK1 to promote bacterial virulence on plants. *Curr Biol*, 2009, 19: 423–429
- 35 Göhre V, Spallek T, Häweker H, et al. Plant pattern-recognition receptor FLS2 is directed for degradation by the bacterial ubiquitin ligase AvrPtoB. *Curr Biol*, 2008, 18: 1824–1832
- 36 Xu N, Luo X, Wu W, et al. A plant lectin receptor-like kinase phosphorylates the bacterial effector AvrPtoB to dampen its virulence in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2020, 13: 1499–1512
- 37 Wang W, Liu N, Gao C, et al. The *Pseudomonas syringae* effector AvrPtoB associates with and ubiquitinates *Arabidopsis* exocyst subunit EXO70B1. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1027
- 38 Zipfel C, Rathjen J P. Plant immunity: AvrPto targets the frontline. *Curr Biol*, 2008, 18: R218–R220
- 39 Macho A P, Schwessinger B, Ntoukakis V, et al. A bacterial tyrosine phosphatase inhibits plant pattern recognition receptor activation. *Science*, 2014, 343: 1509–1512
- 40 Luo X, Wu W, Liang Y, et al. Tyrosine phosphorylation of the lectin receptor-like kinase LORE regulates plant immunity. *EMBO J*, 2020, 39: e102856
- 41 Feng F, Yang F, Rong W, et al. A *Xanthomonas* uridine 5'-monophosphate transferase inhibits plant immune kinases. *Nature*, 2012, 485: 114–118
- 42 Mackey D, Belkadir Y, Alonso J M, et al. *Arabidopsis* RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance. *Cell*, 2003, 112: 379–389
- 43 Rodríguez-Herva J J, González-Melendi P, Cuartas-Lanza R, et al. A bacterial cysteine protease effector protein interferes with photosynthesis to suppress plant innate immune responses. *Cell Microbiol*, 2012, 14: 669–681
- 44 Zhang J, Li W, Xiang T, et al. Receptor-like cytoplasmic kinases integrate signaling from multiple plant immune receptors and are targeted by a *Pseudomonas syringae* effector. *Cell Host Microbe*, 2010, 7: 290–301
- 45 Le Roux C, Huet G, Jauneau A, et al. A receptor pair with an integrated decoy converts pathogen disabling of transcription factors to immunity. *Cell*, 2015, 161: 1074–1088
- 46 Jiang S, Yao J, Ma K W, et al. Bacterial effector activates jasmonate signaling by directly targeting JAZ transcriptional repressors. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003715
- 47 Rufián J S, Rueda-Blanco J, López-Márquez D, et al. The bacterial effector HopZ1a acetylates MKK7 to suppress plant immunity. *New Phytol*, 2021, 231: 1138–1156
- 48 Lee A H, Hurley B, Felsensteiner C, et al. A bacterial acetyltransferase destroys plant microtubule networks and blocks secretion. *PLoS Pathog*, 2012, 8: e1002523
- 49 Schreiber K J, Hassan J A, Lewis J D. *Arabidopsis* abscisic acid repressor 1 is a susceptibility hub that interacts with multiple *Pseudomonas syringae* effectors. *Plant J*, 2021, 105: 1274–1292
- 50 Zhang J, Shao F, Li Y, et al. A *Pseudomonas syringae* effector inactivates MAPKs to suppress PAMP-induced immunity in plants. *Cell Host Microbe*, 2007, 1: 175–185
- 51 Redditt T J, Chung E H, Karimi H Z, et al. AvrRpm1 functions as an ADP-ribosyl transferase to modify NOI domain-containing proteins, including *Arabidopsis* and soybean RPM1-Interacting Protein 4. *Plant Cell*, 2019, 31: 2664–2681
- 52 Nicaise V, Joe A, Jeong B, et al. *Pseudomonas* HopU1 modulates plant immune receptor levels by blocking the interaction of their mRNAs with GRP7. *EMBO J*, 2013, 32: 701–712
- 53 Hann D R, Domínguez-Ferreras A, Motyka V, et al. The *Pseudomonas* type III effector HopQ1 activates cytokinin signaling and interferes with plant innate immunity. *New Phytol*, 2014, 201: 585–598

- 54 Li W, Yadeta K A, Elmore J M, et al. The *Pseudomonas syringae* effector HopQ1 promotes bacterial virulence and interacts with tomato 14-3-3 proteins in a phosphorylation-dependent manner. *Plant Physiol*, 2013, 161: 2062–2074
- 55 Kim J G, Stork W, Mudgett M B. *Xanthomonas* type III effector XopD desumoylates tomato transcription factor SlERF4 to suppress ethylene responses and promote pathogen growth. *Cell Host Microbe*, 2013, 13: 143–154
- 56 Mak A N S, Bradley P, Cernadas R A, et al. The crystal structure of TAL effector PthXo1 bound to its DNA target. *Science*, 2012, 335: 716–719
- 57 Shabab M, Shindo T, Gu C, et al. Fungal effector protein AVR2 targets diversifying defense-related cys proteases of tomato. *Plant Cell*, 2008, 20: 1169–1183
- 58 Song J, Win J, Tian M, et al. Apoplastic effectors secreted by two unrelated eukaryotic plant pathogens target the tomato defense protease Rcr3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 1654–1659
- 59 Qiao Y, Shi J, Zhai Y, et al. *Phytophthora* effector targets a novel component of small RNA pathway in plants to promote infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 5850–5855
- 60 Li H, Wang J, Kuan T A, et al. Pathogen protein modularity enables elaborate mimicry of a host phosphatase. *Cell*, 2023, 186: 3196–3207.e17
- 61 Gao M, He Y, Yin X, et al. Ca²⁺ sensor-mediated ROS scavenging suppresses rice immunity and is exploited by a fungal effector. *Cell*, 2021, 184: 5391–5404.e17
- 62 Shi X, Long Y, He F, et al. The fungal pathogen *Magnaporthe oryzae* suppresses innate immunity by modulating a host potassium channel. *PLoS Pathog*, 2018, 14: e1006878
- 63 Park C H, Chen S, Shirsekar G, et al. The *Magnaporthe oryzae* effector AvrPiz-t targets the RING E3 ubiquitin ligase APIP6 to suppress pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity in rice. *Plant Cell*, 2012, 24: 4748–4762
- 64 Xiang T, Zong N, Zou Y, et al. *Pseudomonas syringae* effector AvrPto blocks innate immunity by targeting receptor kinases. *Curr Biol*, 2008, 18: 74–80
- 65 Yang C, Yu Y, Huang J, et al. Binding of the *Magnaporthe oryzae* chitinase MoChia1 by a rice tetratricopeptide repeat protein allows free chitin to trigger immune responses. *Plant Cell*, 2019, 31: 172–188
- 66 de Jonge R, Peter van Esse H, Kombrink A, et al. Conserved fungal LysM effector Ecp6 prevents chitin-triggered immunity in plants. *Science*, 2010, 329: 953–955
- 67 Gao F, Zhang B S, Zhao J H, et al. Deacetylation of chitin oligomers increases virulence in soil-borne fungal pathogens. *Nat Plants*, 2019, 5: 1167–1176
- 68 Irieda H, Inoue Y, Mori M, et al. Conserved fungal effector suppresses PAMP-triggered immunity by targeting plant immune kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 496–505
- 69 Shan L, He P, Li J, et al. Bacterial effectors target the common signaling partner BAK1 to disrupt multiple MAMP receptor-signaling complexes and impede plant immunity. *Cell Host Microbe*, 2008, 4: 17–27
- 70 Zhou J, Wu S, Chen X, et al. The *Pseudomonas syringae* effector HopF2 suppresses *Arabidopsis* immunity by targeting BAK1. *Plant J*, 2014, 77: 235–245
- 71 Li L, Li M, Yu L, et al. The FLS2-associated kinase BIK1 directly phosphorylates the NADPH oxidase RbohD to control plant immunity. *Cell Host Microbe*, 2014, 15: 329–338
- 72 Kadota Y, Sklenar J, Derbyshire P, et al. Direct regulation of the NADPH oxidase RBOHD by the PRR-associated kinase BIK1 during plant immunity. *Mol Cell*, 2014, 54: 43–55
- 73 Liang X, Bao Y, Zhang M, et al. A *Phytophthora capsici* RXLR effector targets and inhibits the central immune kinases to suppress plant immunity. *New Phytol*, 2021, 232: 264–278
- 74 Hemetsberger C, Herrberger C, Zechmann B, et al. The *Ustilago maydis* effector Pep1 suppresses plant immunity by inhibition of host peroxidase activity. *PLoS Pathog*, 2012, 8: e1002684
- 75 Singh R, Dangol S, Chen Y, et al. *Magnaporthe oryzae* effector AVR-Pii helps to establish compatibility by inhibition of the rice NADP-malic enzyme resulting in disruption of oxidative burst and host innate immunity. *Mol Cells*, 2016, 39: 426–438
- 76 Wang Y, Pruitt R N, Nürnberger T, et al. Evasion of plant immunity by microbial pathogens. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20: 449–464
- 77 Wei H L, Zhang W, Collmer A. Modular study of the type III effector repertoire in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 reveals a matrix of effector interplay in pathogenesis. *Cell Rep*, 2018, 23: 1630–1638
- 78 Kadota Y, Shirasu K. The HSP90 complex of plants. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1823: 689–697
- 79 Lopez V A, Park B C, Nowak D, et al. A bacterial effector mimics a host HSP90 client to undermine immunity. *Cell*, 2019, 179: 205–218.e21
- 80 Yu G, Xian L, Xue H, et al. A bacterial effector protein prevents MAPK-mediated phosphorylation of SGT1 to suppress plant immunity. *PLoS Pathog*, 2020, 16: e1008933
- 81 Nakano M, Ichinose Y, Mukaiyama T. *Ralstonia solanacearum* type III effector RipAC targets SGT1 to suppress effector-triggered immunity. *Plant Cell Physiol*, 2020, 61: 2067–2076

- 82 Yang B, Yang S, Guo B, et al. The *Phytophthora* effector Avh241 interacts with host NDR1-like proteins to manipulate plant immunity. *J Integr Plant Biol*, 2021, 63: 1382–1396
- 83 Liang X, Zhou J M. Receptor-like cytoplasmic kinases: Central players in plant receptor kinase-mediated signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2018, 69: 267–299
- 84 Russell A R, Ashfield T, Innes R W. *Pseudomonas syringae* effector AvrPphB suppresses AvrB-induced activation of RPM1 but not avrrpm1-induced activation. *Mol Plant Microbe Interact*, 2015, 28: 727–735
- 85 Lee J, Manning A J, Wolfgeher D, et al. Acetylation of an NB-LRR plant immune-effector complex suppresses immunity. *Cell Rep*, 2015, 13: 1670–1682
- 86 Deb S, Ghosh P, Patel H K, et al. Interaction of the *Xanthomonas* effectors XopQ and XopX results in induction of rice immune responses. *Plant J*, 2020, 104: 332–350
- 87 Deb S, Gokulan C G, Nathawat R, et al. Suppression of XopQ–XopX-induced immune responses of rice by the type III effector XopG. *Mol Plant Pathol*, 2022, 23: 634–648
- 88 Yang L N, Liu H, Wang Y P, et al. Pathogen-mediated stomatal opening: A previously overlooked pathogenicity strategy in the oomycete pathogen *Phytophthora infestans*. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 668797
- 89 Melotto M, Underwood W, Koczan J, et al. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell*, 2006, 126: 969–980
- 90 Lee D H, Bourdais G, Yu G, et al. Phosphorylation of the plant immune regulator RPM1-INTERACTING PROTEIN4 enhances plant plasma membrane H^+ -ATPase activity and inhibits flagellin-triggered immune responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2015, 27: 2042–2056
- 91 Liu J, Elmore J M, Fuglsang AT, et al. RIN4 functions with plasma membrane H^+ -ATPases to regulate stomatal apertures during pathogen attack. *PLoS Biol*, 2009, 7: e1000139
- 92 Hurley B, Lee D, Mott A, et al. The *Pseudomonas syringae* type III effector HopF2 suppresses *Arabidopsis* stomatal immunity. *PLoS One*, 2014, 9: e114921
- 93 Lozano-Durán R, Bourdais G, He S Y, et al. The bacterial effector HopM1 suppresses PAMP-triggered oxidative burst and stomatal immunity. *New Phytol*, 2014, 202: 259–269
- 94 Wang S, Sun J, Fan F, et al. A *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* effector, XopR, associates with receptor-like cytoplasmic kinases and suppresses PAMP-triggered stomatal closure. *Sci China Life Sci*, 2016, 59: 897–905
- 95 Raffener M, Üstün S, Guerra T, et al. The *Xanthomonas* type-III effector XopS stabilizes CaWRKY40a to regulate defense responses and stomatal immunity in pepper (*Capsicum annuum*). *Plant Cell*, 2022, 34: 1684–1708
- 96 Wang S, Li S, Wang J, et al. A bacterial kinase phosphorylates OSK1 to suppress stomatal immunity in rice. *Nat Commun*, 2021, 12: 5479
- 97 Liu L, Li Y, Xu Z, et al. The *Xanthomonas* type III effector XopAP prevents stomatal closure by interfering with vacuolar acidification. *J Integr Plant Biol*, 2022, 64: 1994–2008
- 98 Hu Y, Ding Y, Cai B, et al. Bacterial effectors manipulate plant abscisic acid signaling for creation of an aqueous apoplast. *Cell Host Microbe*, 2022, 30: 518–529.e6
- 99 Gentzel I, Giese L, Ekanayake G, et al. Dynamic nutrient acquisition from a hydrated apoplast supports biotrophic proliferation of a bacterial pathogen of maize. *Cell Host Microbe*, 2022, 30: 502–517.e4
- 100 Djamei A, Schipper K, Rabe F, et al. Metabolic priming by a secreted fungal effector. *Nature*, 2011, 478: 395–398
- 101 Qin J, Wang K, Sun L, et al. The plant-specific transcription factors CBP60g and SARD1 are targeted by a *Verticillium* secretory protein VdSCP41 to modulate immunity. *eLife*, 2018, 7: e34902
- 102 Chen H, Chen J, Li M, et al. A bacterial type III effector targets the master regulator of salicylic acid signaling, NPR1, to subvert plant immunity. *Cell Host Microbe*, 2017, 22: 777–788.e7
- 103 Cui H, Wang Y, Xue L, et al. *Pseudomonas syringae* effector protein AvrB perturbs *Arabidopsis* hormone signaling by activating MAP kinase 4. *Cell Host Microbe*, 2010, 7: 164–175
- 104 Blüher D, Laha D, Thieme S, et al. A 1-phytase type III effector interferes with plant hormone signaling. *Nat Commun*, 2017, 8: 2159
- 105 Chen Z, Agnew J L, Cohen J D, et al. *Pseudomonas syringae* type III effector AvrRpt2 alters *Arabidopsis thaliana* auxin physiology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 20131–20136
- 106 Cui F, Wu S, Sun W, et al. The *Pseudomonas syringae* type III effector AvrRpt2 promotes pathogen virulence via stimulating *Arabidopsis* auxin/indole acetic acid protein turnover. *Plant Physiol*, 2013, 162: 1018–1029
- 107 Liu Y, Mahmud M R, Xu N, et al. The *Pseudomonas syringae* effector AvrPtoB targets abscisic acid signaling pathway to promote its virulence in *Arabidopsis*. *Phytopathol Res*, 2022, 4: 5
- 108 Saunders D G O, Breen S, Win J, et al. Host protein BSL1 Associates with *Phytophthora infestans* RXLR effector AVR2 and the *Solanum demissum* immune receptor R2 to mediate disease resistance. *Plant Cell*, 2012, 24: 3420–3434
- 109 Yang B, Wang Y, Guo B, et al. The *Phytophthora sojae* RXLR effector Avh238 destabilizes soybean type 2 GmACSs to suppress ethylene

- biosynthesis and promote infection. [New Phytol](#), 2019, 222: 425–437
- 110 Choi S, Tamaki T, Ebine K, et al. RABA members act in distinct steps of subcellular trafficking of the FLAGELLIN SENSING2 receptor. [Plant Cell](#), 2013, 25: 1174–1187
- 111 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 J](#), 2018, 95: 187–203
- 112 Yuen E L H, Shepherd S, Bozkurt T O. Traffic control: Subversion of plant membrane trafficking by pathogens. [Annu Rev Phytopathol](#), 2023, 61: 325–350
- 113 Sabol P, Kulich I, Žárský V. RIN4 recruits the exocyst subunit EXO70B1 to the plasma membrane. [J Exp Bot](#), 2017, 68: 3253–3265
- 114 Petre B, Contreras M P, Bozkurt T O, et al. Host-interactor screens of *Phytophthora infestans* RXLR proteins reveal vesicle trafficking as a major effector-targeted process. [Plant Cell](#), 2021, 33: 1447–1471
- 115 Chaparro-Garcia A, Schwizer S, Sklenar J, et al. *Phytophthora infestans* RXLR-WY effector AVR3a associates with dynamin-related protein 2 required for endocytosis of the plant pattern recognition receptor FLS2. [PLoS One](#), 2015, 10: e0137071
- 116 Nomura K, Mecey C, Lee Y N, et al. Effector-triggered immunity blocks pathogen degradation of an immunity-associated vesicle traffic regulator in *Arabidopsis*. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2011, 108: 10774–10779
- 117 Lal N K, Thanasuwat B, Huang P, et al. Phytopathogen effectors use multiple mechanisms to manipulate plant autophagy. [Cell Host Microbe](#), 2020, 28: 558–571.e6
- 118 Shi J, Gong Y, Shi H, et al. ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ secretory protein SDE3 inhibits host autophagy to promote Huanglongbing disease in citrus. [Autophagy](#), 2023, 19: 2558–2574
- 119 Shi H, Yang Z, Huang J, et al. An effector of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ manipulates autophagy to promote bacterial infection. [J Exp Bot](#), 2023, 74: 4670–4684
- 120 Leong J X, Raffener M, Spinti D, et al. A bacterial effector counteracts host autophagy by promoting degradation of an autophagy component. [EMBO J](#), 2022, 41: e110352
- 121 Yang M, Zhang Y, Xie X, et al. *Barley stripe mosaic virus* yb protein subverts autophagy to promote viral infection by disrupting the ATG7-ATG8 interaction. [Plant Cell](#), 2018, 30: 1582–1595
- 122 Chen J, Chen S, Xu C, et al. A key virulence effector from cyst nematodes targets host autophagy to promote nematode parasitism. [New Phytol](#), 2023, 237: 1374–1390
- 123 Dagdas Y F, Belhaj K, Maqbool A, et al. An effector of the Irish potato famine pathogen antagonizes a host autophagy cargo receptor. [eLife](#), 2016, 5: e10856
- 124 Pandey P, Leary A Y, Tumas Y, et al. An oomycete effector subverts host vesicle trafficking to channel starvation-induced autophagy to the pathogen interface. [eLife](#), 2021, 10: e65285
- 125 Kanwar P, Jha G. Alterations in plant sugar metabolism: Signatory of pathogen attack. [Planta](#), 2019, 249: 305–318
- 126 Castro-Moretti F R, Gentzel I N, Mackey D, et al. Metabolomics as an emerging tool for the study of plant–pathogen interactions. [Metabolites](#), 2020, 10: 52
- 127 Bowyer P, Mueller E, Lucas J. Use of an isocitrate lyase promoter-GFP fusion to monitor carbon metabolism of the plant pathogen *Tapesia yellundae* during infection of wheat. [Mol Plant Pathol](#), 2000, 1: 253–262
- 128 Solomon P S, Oliver R P. The nitrogen content of the tomato leaf apoplast increases during infection by *Cladosporium fulvum*. [Planta](#), 2001, 213: 241–249
- 129 Solomon P S, Oliver R P. Evidence that γ -aminobutyric acid is a major nitrogen source during *Cladosporium fulvum* infection of tomato. [Planta](#), 2002, 214: 414–420
- 130 Ma Z, Song T, 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: 2057–2072
- 131 Zhu X, Fang D, Li D, et al. *Phytophthora sojae* boosts host trehalose accumulation to acquire carbon and initiate infection. [Nat Microbiol](#), 2023, 8: 1561–1573
- 132 Xian L, Yu G, Wei Y, et al. A bacterial effector protein hijacks plant metabolism to support pathogen nutrition. [Cell Host Microbe](#), 2020, 28: 548–557.e7
- 133 Wu X M, Zhang B S, Zhao Y L, et al. DeSUMOylation of a *Verticillium dahliae* enolase facilitates virulence by derepressing the expression of the effector VdSCP8. [Nat Commun](#), 2023, 14: 4844
- 134 Devanna B N, Jaswal R, Singh P K, et al. Role of transporters in plant disease resistance. [Physiologia Plantarum](#), 2021, 171: 849–867
- 135 Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al. Five phylogenetically close rice *SWEET* genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. [New Phytol](#), 2013, 200: 808–819
- 136 Yang S, Fu Y, Zhang Y, et al. *Rhizoctonia solani* transcriptional activator interacts with rice WRKY53 and grassy tiller 1 to activate SWEET

- transporters for nutrition. *J Adv Res*, 2023, 50: 1–12
- 137 Lovelace A H, Smith A, Kvitko B H. Pattern-triggered immunity alters the transcriptional regulation of virulence-associated genes and induces the sulfur starvation response in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. *Mol Plant Microbe Interact*, 2018, 31: 750–765
- 138 Cernadas R A, Doyle E L, Niño-Liu D O, et al. Code-assisted discovery of TAL effector targets in bacterial leaf streak of rice reveals contrast with bacterial blight and a novel susceptibility gene. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1003972
- 139 Xing Y, Xu N, Bhandari D D, et al. Bacterial effector targeting of a plant iron sensor facilitates iron acquisition and pathogen colonization. *Plant Cell*, 2021, 33: 2015–2031
- 140 Römer P, Recht S, Strauß T, et al. Promoter elements of rice susceptibility genes are bound and activated by specific TAL effectors from the bacterial blight pathogen, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *New Phytol*, 2010, 187: 1048–1057
- 141 Yuan M, Chu Z, Li X, et al. The bacterial pathogen *Xanthomonas oryzae* overcomes rice defenses by regulating host copper redistribution. *Plant Cell*, 2010, 22: 3164–3176
- 142 Zhou H, Lin J, Johnson A, et al. *Pseudomonas syringae* type III effector HopZ1 targets a host enzyme to suppress isoflavone biosynthesis and promote infection in soybean. *Cell Host Microbe*, 2011, 9: 177–186
- 143 Bauters L, Kyndt T, De Meyer T, et al. Chorismate mutase and isochorismatase, two potential effectors of the migratory nematode *Hirschmanniella oryzae*, increase host susceptibility by manipulating secondary metabolite content of rice. *Mol Plant Pathol*, 2020, 21: 1634–1646
- 144 Sun Y, Li P, Shen D, et al. The *Ralstonia solanacearum* effector RipN suppresses plant PAMP-triggered immunity, localizes to the endoplasmic reticulum and nucleus, and alters the NADH/NAD⁺ ratio in *Arabidopsis*. *Mol Plant Pathol*, 2019, 20: 533–546
- 145 Eastman S, Smith T, Zaydman M A, et al. A phytochemical TIR domain effector manipulates NAD⁺ to promote virulence. *New Phytol*, 2022, 233: 890–904
- 146 Washington E J, Mukhtar M S, Finkel O M, et al. *Pseudomonas syringae* type III effector HopAF1 suppresses plant immunity by targeting methionine recycling to block ethylene induction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E3577–3586
- 147 Jin H, Zhu J K. A viral suppressor protein inhibits host RNA silencing by hooking up with Argonautes. *Genes Dev*, 2010, 24: 853–856
- 148 Hua C, Zhao J H, Guo H S. Trans-kingdom RNA silencing in plant–fungal pathogen interactions. *Mol Plant*, 2018, 11: 235–244
- 149 Zhu C, Liu J H, Zhao J H, et al. A fungal effector suppresses the nuclear export of AGO1–miRNA complex to promote infection in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119: e2114583119
- 150 Hou Y, Zhai Y, Feng L, et al. A *Phytophthora* effector suppresses trans-kingdom RNAi to promote disease susceptibility. *Cell Host Microbe*, 2019, 25: 153–165.e5
- 151 Huang J, Lu X, Wu H, et al. *Phytophthora* effectors modulate genome-wide alternative splicing of host mRNAs to reprogram plant immunity. *Mol Plant*, 2020, 13: 1470–1484
- 152 Jiang G, Liu D, Yin D, et al. A rice NBS-ARC gene conferring quantitative resistance to bacterial blight is regulated by a pathogen effector-inducible miRNA. *Mol Plant*, 2020, 13: 1752–1767
- 153 Pennington H G, Jones R, Kwon S, et al. The fungal ribonuclease-like effector protein CSEP0064/BEC1054 represses plant immunity and interferes with degradation of host ribosomal RNA. *PLoS Pathog*, 2019, 15: e1007620
- 154 Vijayapalan P, Hewezi T, Pontvianne F, et al. An effector from the cyst nematode *Heterodera schachtii* derepresses host rRNA genes by altering histone acetylation. *Plant Cell*, 2018, 30: 2795–2812
- 155 Guan X, Buchholz G, Nick P. The cytoskeleton is disrupted by the bacterial effector HrpZ, but not by the bacterial PAMP flg22, in tobacco BY-2 cells. *J Exp Bot*, 2013, 64: 1805–1816
- 156 Kang Y, Jelenska J, Cecchini N M, et al. HopW1 from *Pseudomonas syringae* disrupts the actin cytoskeleton to promote virulence in *Arabidopsis*. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004232
- 157 Erickson J L, Adlung N, Lampe C, et al. The *Xanthomonas* effector XopL uncovers the role of microtubules in stomatal extension and dynamics in *Nicotiana benthamiana*. *Plant J*, 2018, 93: 856–870
- 158 Leelarasamee N, Zhang L, Gleason C. The root-knot nematode effector MiPFN3 disrupts plant actin filaments and promotes parasitism. *PLoS Pathog*, 2018, 14: e1006947
- 159 Jelenska J, Yao N, Vinatzer B A, et al. A J-domain virulence effector of *Pseudomonas syringae* remodels host chloroplasts and suppresses defenses. *Curr Biol*, 2007, 17: 499–508
- 160 Liu Y, Lan X, Song S, et al. In planta functional analysis and subcellular localization of the oomycete pathogen *Plasmopara viticola* candidate RXLR effector repertoire. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 286
- 161 Manning V A, Hardison L K, Ciuffetti L M. Ptr ToxA interacts with a chloroplast-localized protein. *Mol Plant Microbe Interact*, 2007, 20: 168–177
- 162 Meng F, Zhao Q, Zhao X, et al. A rice protein modulates endoplasmic reticulum homeostasis and coordinates with a transcription factor to initiate

- blast disease resistance. [Cell Rep](#), 2022, 39: 110941
- 163 McLellan H, Boevink P C, Armstrong M R, et al. An RxLR effector from *Phytophthora infestans* prevents re-localisation of two plant NAC transcription factors from the endoplasmic reticulum to the nucleus. [PLoS Pathog](#), 2013, 9: e1003670
- 164 Jing M, Guo B, Li H, et al. A *Phytophthora sojae* effector suppresses endoplasmic reticulum stress-mediated immunity by stabilizing plant Binding immunoglobulin Proteins. [Nat Commun](#), 2016, 7: 11685
- 165 Fan G, Yang Y, Li T, et al. A *Phytophthora capsici* RXLR effector targets and inhibits a plant PPIase to suppress endoplasmic reticulum-mediated immunity. [Mol Plant](#), 2018, 11: 1067–1083
- 166 Üstün S, Sheikh A, Gimenez-Ibanez S, et al. The proteasome acts as a hub for plant immunity and is targeted by *Pseudomonas* type III effectors. [Plant Physiol](#), 2016, 172: 1941–1958
- 167 Üstün S, König P, Guttman D S, et al. HopZ4 from *Pseudomonas syringae*, a member of the HopZ type III effector family from the YopJ superfamily, inhibits the proteasome in plants. [Mol Plant Microbe Interact](#), 2014, 27: 611–623
- 168 Li Z, Variz H, Chen Y, et al. Plasmodesmata-dependent intercellular movement of bacterial effectors. [Front Plant Sci](#), 2021, 12: 640277
- 169 Cao L, Blekemolen M C, Tintor N, et al. The *Fusarium oxysporum* Avr2-Six5 effector pair alters plasmodesmatal exclusion selectivity to facilitate cell-to-cell movement of Avr2. [Mol Plant](#), 2018, 11: 691–705
- 170 Aung K, Kim P, Li Z, et al. Pathogenic bacteria target plant plasmodesmata to colonize and invade surrounding tissues. [Plant Cell](#), 2020, 32: 595–611
- 171 Rovenich H, Boshoven J C, Thomma B P. Filamentous pathogen effector functions: Of pathogens, hosts and microbiomes. [Curr Opin Plant Biol](#), 2014, 20: 96–103
- 172 Snelders N C, Kettles G J, Rudd J J, et al. Plant pathogen effector proteins as manipulators of host microbiomes? [Mol Plant Pathol](#), 2018, 19: 257–259
- 173 Snelders N C, Rovenich H, Petti G C, et al. Microbiome manipulation by a soil-borne fungal plant pathogen using effector proteins. [Nat Plants](#), 2020, 6: 1365–1374
- 174 Snelders N C, Boshoven J C, Song Y, et al. A highly polymorphic effector protein promotes fungal virulence through suppression of plant-associated *Actinobacteria*. [New Phytol](#), 2023, 237: 944–958
- 175 Snelders N C, Petti G C, van den Berg G C M, et al. An ancient antimicrobial protein co-opted by a fungal plant pathogen for in planta mycobiome manipulation. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2021, 118: e2110968118
- 176 Wu D, von Roepenack-Lahaye E, Buntru M, et al. A Plant pathogen type III effector protein subverts translational regulation to boost host polyamine levels. [Cell Host Microbe](#), 2019, 26: 638–649.e5
- 177 Marie C, Broughton W J, Deakin W J. *Rhizobium* type III secretion systems: Legume charmers or alarmers? [Curr Opin Plant Biol](#), 2001, 4: 336–342
- 178 Xin D W, Liao S, Xie Z P, et al. Functional analysis of NopM, a novel E3 ubiquitin ligase (NEL) domain effector of *Rhizobium* sp. strain NGR234. [PLoS Pathog](#), 2012, 8: e1002707
- 179 Orth K, Xu Z, Mudgett M B, et al. Disruption of Signaling by *Yersinia* effector YopJ, a ubiquitin-like protein protease. [Science](#), 2000, 290: 1594–1597
- 180 Orth K. Function of the *Yersinia* effector YopJ. [Curr Opin Microbiol](#), 2002, 5: 38–43
- 181 Bartsev A V, Boukli N M, Deakin W J, et al. Purification and phosphorylation of the effector protein NopL from *Rhizobium* sp. NGR234. [FEBS Lett](#), 2003, 554: 271–274
- 182 Bartsev A V, Deakin W J, Boukli N M, et al. NopL, an effector protein of *Rhizobium* sp. NGR234, thwarts activation of plant defense reactions. [Plant Physiol](#), 2004, 134: 871–879
- 183 Zhang L, Chen X J, Lu H B, et al. Functional analysis of the type 3 effector nodulation outer protein L (NopL) from *Rhizobium* sp. NGR234. [J Biol Chem](#), 2011, 286: 32178–32187
- 184 Skorpil P, Saad M M, Boukli N M, et al. NopP, a phosphorylated effector of *Rhizobium* sp. strain NGR234, is a major determinant of nodulation of the tropical legumes *Flemingia congesta* and *Tephrosia vogelii*. [Mol Microbiol](#), 2005, 57: 1304–1317
- 185 Li Y, Wang C, Zheng L, et al. Natural variation of GmRj2/Rfg1 determines symbiont differentiation in soybean. [Curr Biol](#), 2023, 33: 2478–2490.e5
- 186 Hayashi M, Shiro S, Kanamori H, et al. A thaumatin-like protein, Rj4, controls nodule symbiotic specificity in soybean. [Plant Cell Physiol](#), 2014, 55: 1679–1689
- 187 Faruque O M, Miwa H, Yasuda M, et al. Identification of *Bradyrhizobium elkanii* genes involved in incompatibility with soybean plants carrying the *Rj4* allele. [Appl Environ Microbiol](#), 2015, 81: 6710–6717
- 188 Klopfolz S, Kuhn H, Requena N. A secreted fungal effector of *Glomus intraradices* promotes symbiotic biotrophy. [Curr Biol](#), 2011, 21: 1204–1209

- 189 Wang P, Jiang H, Boeren S, et al. A nuclear-targeted effector of *Rhizophagus irregularis* interferes with histone 2B mono-ubiquitination to promote arbuscular mycorrhization. *New Phytol*, 2021, 230: 1142–1155
- 190 Osborne R, Rehneke L, Lehmann S, et al. Symbiont-host interactome mapping reveals effector-targeted modulation of hormone networks and activation of growth promotion. *Nat Commun*, 2023, 14: 4065
- 191 Flor H H. Current status of the gene-for-gene concept. *Annu Rev Phytopathol*, 1971, 9: 275–296
- 192 Ngou B P M, Ding P, Jones J D G. Thirty years of resistance: Zig-zag through the plant immune system. *Plant Cell*, 2022, 34: 1447–1478
- 193 Jones J D G, Vance R E, Dangl J L. Intracellular innate immune surveillance devices in plants and animals. *Science*, 2016, 354: aaf6395
- 194 Eitas T K, Dangl J L. NB-LRR proteins: Pairs, pieces, perception, partners, and pathways. *Curr Opin Plant Biol*, 2010, 13: 472–477
- 195 Dodds P N, Lawrence G J, Catanzariti A M, et al. Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 8888–8893
- 196 Sarris P F, Duxbury Z, Huh S U, et al. A plant immune receptor detects pathogen effectors that target WRKY transcription factors. *Cell*, 2015, 161: 1089–1100
- 197 Guo L, Cesari S, de Guillen K, et al. Specific recognition of two MAX effectors by integrated HMA domains in plant immune receptors involves distinct binding surfaces. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 11637–11642
- 198 Kroj T, Chancud E, Michel-Romiti C, et al. Integration of decoy domains derived from protein targets of pathogen effectors into plant immune receptors is widespread. *New Phytol*, 2016, 210: 618–626
- 199 van der Hoorn R A L, Kamoun S. From guard to decoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell*, 2008, 20: 2009–2017
- 200 Toruño T Y, Shen M, Coaker G, et al. Regulated disorder: Posttranslational modifications control the RIN4 plant immune signaling hub. *Mol Plant Microbe Interact*, 2019, 32: 56–64
- 201 Shao F, Golstein C, Ade J, et al. Cleavage of *Arabidopsis* PBS1 by a bacterial type III effector. *Science*, 2003, 301: 1230–1233
- 202 Kim S H, Qi D, Ashfield T, et al. Using decoys to expand the recognition specificity of a plant disease resistance protein. *Science*, 2016, 351: 684–687
- 203 Bernoux M, Ve T, Williams S, et al. Structural and functional analysis of a plant resistance protein TIR domain reveals interfaces for self-association, signaling, and autoregulation. *Cell Host Microbe*, 2011, 9: 200–211
- 204 Maekawa T, Cheng W, Spiridon L N, et al. Coiled-coil domain-dependent homodimerization of intracellular barley immune receptors defines a minimal functional module for triggering cell death. *Cell Host Microbe*, 2011, 9: 187–199
- 205 Wang J, Wang J, Hu M, et al. Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science*, 2019, 364: eaav5868
- 206 Wang J, Hu M, Wang J, et al. Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science*, 2019, 364: eaav5870
- 207 Wang G, Roux B, Feng F, et al. The decoy substrate of a pathogen effector and a pseudokinase specify pathogen-induced modified-self recognition and immunity in plants. *Cell Host Microbe*, 2015, 18: 285–295
- 208 Bi G, Su M, Li N, et al. The ZAR1 resistosome is a calcium-permeable channel triggering plant immune signaling. *Cell*, 2021, 184: 3528–3541. e12
- 209 Ma S, Lapin D, Liu L, et al. Direct pathogen-induced assembly of an NLR immune receptor complex to form a holoenzyme. *Science*, 2020, 370: eabe3069
- 210 Martin R, Qi T, Zhang H, et al. Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. *Science*, 2020, 370: eabd9993
- 211 Jacob P, Kim N H, Wu F, et al. Plant “helper” immune receptors are Ca^{2+} -permeable nonselective cation channels. *Science*, 2021, 373: 420–425
- 212 Förderer A, Li E, Lawson A W, et al. A wheat resistosome defines common principles of immune receptor channels. *Nature*, 2022, 610: 532–539
- 213 Mukhtar M S, Carvunis A R, Dreze M, et al. Independently evolved virulence effectors converge onto hubs in a plant immune system network. *Science*, 2011, 333: 596–601
- 214 Liu Y, Zhang X, Yuan G, et al. A designer rice NLR immune receptor confers resistance to the rice blast fungus carrying noncorresponding avirulence effectors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2110751118
- 215 Laflamme B, Dillon M M, Martel A, et al. The pan-genome effector-triggered immunity landscape of a host-pathogen interaction. *Science*, 2020, 367: 763–768

Summary for “植物病原菌效应子”

Research advances of phytopathogen effectors

Meixiang Zhang^{1*}, Chao Yang^{2*} & Jun Liu^{2*}

¹ College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China;

² College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China

* Corresponding authors, E-mail: meixiangzhang@snnu.edu.cn; chaoyang@cau.edu.cn; Junliu@im.ac.cn

Phytopathogens cause many serious diseases in plants. During millions of years of battles with plants, phytopathogens have evolved many strategies to suppress plant immunity for their infection. Effectors, secreted by pathogens during infection, are the key weapon of pathogens. These effectors act either in the apoplast or cytoplasm and play a vital role in interfering with plant physiology and defense responses in order to create a suitable environment for colonization. Effector biology research has achieved tremendous progress in the last two decades, enabling us to recognize their essential roles in plant and pathogen interactions.

Technique advancements have increased our understanding to effector biology. Development of high-throughput sequencing and omics techniques have dramatically improved our ability to identify and characterize effector repertoires in various pathogens. The elucidation of effector targets and their mode of action has helped us use these knowledges to engineer disease-resistant crops through genetic modification. Currently, our understanding to pathogen effector biology has undergone a significant expansion beyond the well-known immune signaling suppression. Effectors have been found to interfere with diverse biological processes of host plants, including plant metabolism, the dynamic regulation of stomatal movement, phytohormone signaling, the function of organelles, and even the delicate balance of host-associated microbiome. This paradigm shift highlights the complexity of the host-pathogen interactions and reveals the multifaceted strategies that pathogens employ to establish successful infections. One of the groundbreaking achievements in effector biology is the discovery of plant resistosomes, which resolves the long-standing question that how plant NLR immune receptors recognize effectors for immune activation. This groundbreaking finding not only provides a complete framework for us to understand the effector-triggered immunity in plants but also holds profound implications for the view of host-pathogen interactions, which will prompt the development of innovative strategies to bolster crop protection and food security.

This review summarizes the recent research advances of phytopathogen effectors, including effector characteristics, diversity in different pathogens, translocation, the functions in interfering with host multiple biological processes, and their recognition in host plants and the discovery of plant resistosomes. Additionally, it offers a perspective for future research in the field of effector biology.

effector, plant immunity, virulence targets, immune interference, immune recognition

doi: [10.1360/TB-2023-0788](https://doi.org/10.1360/TB-2023-0788)