

茄科劳尔氏菌复合体毒力基因及调控网络最新研究进展

袁婷, 李金豪, 刘吉平*

华南农业大学动物科学学院 亚太地区蚕桑培训中心, 广东 广州 510642

袁婷, 李金豪, 刘吉平. 茄科劳尔氏菌复合体毒力基因及调控网络最新研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(5): 2227-2248.

YUAN Ting, LI Jinhao, LIU Jiping. Latest research progress in virulence genes and regulatory networks of *Ralstonia solanacearum* species complex[J]. Microbiology China, 2023, 50(5): 2227-2248.

摘要: 植物青枯病是一种能造成巨大经济损失的土传病害, 其病原茄科劳尔氏菌复合体(*Ralstonia solanacearum* species complex, RSSC)能通过复杂的毒力调控网络将毒力因子合成并分泌到植物细胞胞质间或细胞质内, 从而引起寄主植物发病。本文详细分析了 RSSC 主要的毒力基因及调控网络, 包括其运动性(鞭毛, 菌毛)、细菌分泌系统(T2SS、T3SS 以及 T6SS)、毒力调控系统(Phc、Prh、Vsr、Peh、Sol)、毒力因子(CWDEs、T3Es、EPS)、群体信号因子 AHL 及植物激素, 总结了近年来最新的研究进展并绘制了相关网络调控模式图, 以期为进一步研究 RSSC 的致病机理及防控研究提供参考。

关键词: 青枯菌; 调控系统; 运动性; 细菌分泌系统; 群体感应

Latest research progress in virulence genes and regulatory networks of *Ralstonia solanacearum* species complex

YUAN Ting, LI Jinhao, LIU Jiping*

College of Animal Science, Regional Sericulture Training Center for Asia-Pacific, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China

Abstract: Plant bacterial wilt is a soil-borne disease that can cause huge economic losses. The pathogen, *Ralstonia solanacearum* species complex (RSSC), can synthesize virulence factors through a complex virulence regulatory network and secrete them into the intercellular matrix or cytoplasm of plant cells, thereby causing disease and withering of host plants. This paper

资助项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-18-ZJ0304)

This work was supported by the China Agriculture Research System (CARS-18-ZJ0304).

*Corresponding author. E-mail: liujiping@scau.edu.cn

Received: 2022-08-10; Accepted: 2022-10-27; Published online: 2022-11-28

elaborates on the main virulence genes and regulatory networks of RSSC, including the motility (flagella and fimbriae), bacterial secretion systems (T2SS, T3SS, and T6SS), virulence regulatory systems (Phc, Prh, Vsr, Peh, and Sol), virulence factors (CWDEs, T3Es, and EPS), the quorum sensing signal AHL, and phytohormones. We summarized the latest research progress and depicted the relevant regulation network, aiming to provide a reference for further research on the pathogenic mechanism of plant bacterial wilt.

Keywords: *Ralstonia solanacearum*; regulatory system; motility; bacterial secretion system; quorum sensing

植物土传病害中病原茄科劳尔氏菌复合体 (*Ralstonia solanacearum* species complex, RSSC) 被列为世界第二大重要的细菌病原体, 是截至目前最具有破坏性的病原体之一^[1], 已被列入世界检疫性病害名录^[2]。RSSC 寄主范围包括 50 多种植物的 450 多种, 主要有茄科植物的马铃薯、番茄、烟草等, 双子叶植物的桑树、桉树、木麻黄及花生等, 以及单子叶植物的玉米、香蕉等^[3-4]。据调查统计, RSSC 能导致番茄产量损失 0–1%, 马铃薯为 33%–90%, 烟草为 10%–30%, 香蕉为 80%–100%等^[2]。有研究者估测每年由于 RSSC 造成的经济损失为 10 亿美元以上^[5]。这种经济损失在马铃薯产业中尤为突出, 据统计, RSSC 影响着全球 80 个国家共计 1.5 万 km² 马铃薯生产^[6]。

RSSC 能以寄生生活方式在寄主体内快速繁殖, 还能以腐生生活方式在土壤和水中生存数年, 容易通过灌溉水、农具、作物残骸、种子、苗木贸易等进行传播和扩散, 再加上其分类和致病机理极其复杂, 难以防控^[7-8]。青枯病的发生主要取决于 RSSC 的毒力因子, 系统且深入地分析并总结 RSSC 的致病过程及发病机理, 有助于对青枯病的进一步研究及防控。目前, 国内关于 RSSC 毒力调控系统的研究综述报道较少, 因此, 本文从 RSSC 的运动性(鞭毛、菌毛)、细菌分泌系统(T2SS、T3SS 和 T6SS)与毒力调控系统(Phc、Prh、Vsr、Peh 和 Sol)、

群体信号因子 AHL 及植物激素研究进展进行综述。

1 茄科劳尔氏菌复合体侵染规律

RSSC 归属于细菌界(Bacteria)变形菌门(Proteobacteria) β -变形菌纲(Betaproteobacteria)伯克氏菌目(Burkholderiales)伯克氏菌科(Burkholderiaceae)劳尔氏菌属(*Ralstonia*), 在电子显微镜下呈杆状, 菌体约长 0.7–1.2 μm , 宽约 0.4–0.5 μm (图 1A), 表面粗糙, 无芽孢, 具有 1–4 条极性鞭毛(图 1B), 属革兰氏阴性细菌^[9-10]。RSSC 具有非常强的适应性, 能通过分泌胞外多糖类等黏稠状物质将 RSSC 细胞、细胞残渣、蛋白质、DNA 及 DNA 降解酶等物质黏合形成保护膜, 以抵御干旱等不利环境, 提高存活率^[11]。

RSSC 造成寄主植物枯萎死亡与其毒力因子相关, 绝大多数毒力因子直接分泌到植物细胞胞质间或细胞质内, 主要分为 6 类: (1) 蛋白质毒力因子, 称为“效应子”, 通过的 III 型分泌系统(type III secretion system, T3SS)和 VI 型分泌系统(type VI secretion system, T6SS)直接分泌到植物细胞质中^[12]; (2) 细胞壁降解酶(cell wall degrading enzymes, CWDEs), 多聚半乳糖醛酸酶(PehA、PehB、PehC)、果胶甲脂酶(Pme)、外切葡聚糖酶(ChbA)、内切葡聚糖酶(Egl)等, 通过 II 型分泌系统(type II secretion system, T2SS)

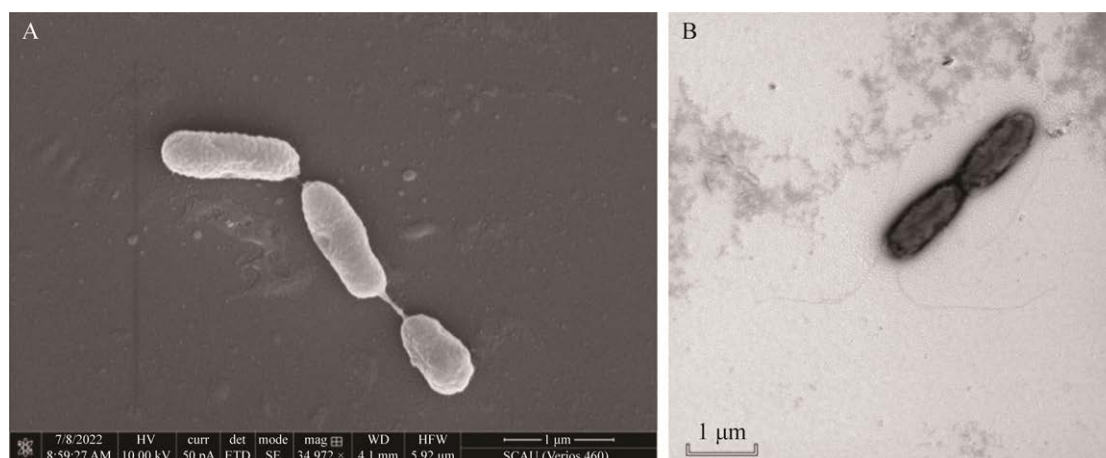


图 1 电子显微镜下的 *Ralstonia pseudosolanacearum* strain XCqk A: 扫描电镜. B: 透射电镜

Figure 1 *Ralstonia pseudosolanacearum* strain XCqk under electron microscope. A: Scanning electron microscopy (SEM). B: Transmission electron microscopy (TEM).

分泌到细胞外^[13]; (3) 胞外多糖(exopolysaccharide, EPS)^[11]; (4) 群体感应信号(quorum sensing signal, QS)因子, 3-羟基棕榈酸甲基酯(3-hydroxypalmitic acid methyl ester, 3-OH PAME)、3-羟基肉豆蔻酸甲酯(methyl 3-hydroxymyristate, 3-OH MAME)和酰基高丝氨酸内酯(acyl homoserine lactone, AHL)等^[14]; (5) 植物激素或激素类似物^[15-16]; (6) 低分子量毒素等^[17]。

侵染初期, RSSC 能感应植物根分泌物并进行定位, 通过鞭毛做趋向性运动接触目标寄主, 利用菌毛并分泌黏性物质黏附在植物细胞表面, 同时, 分泌 DNA 降解酶(exDNases)快速杀死一些植物细胞, 使 RSSC 逃避植物根系防御, 帮助 RSSC 定殖和存活, 此时植物不会出现病状(图 2)^[18]。

侵染中期, RSSC 能利用菌毛附着在根表面, 并在根生长区和侧根部位密集生产, 通过机械伤口如线虫、人工造成的伤口或皮孔等自然开口进入寄主植物根部或茎部, 迁入植物维管束中^[18]。与此同时, RSSC 针对植物细胞壁结构分泌出相应水解酶如 CWDEs, 破坏植物细胞壁结构^[13]。针对植物防御机制分泌出效应因

子, 如通过 T3SS 分泌的 III 型效应因子(type III effector, T3Es) RipA2、RipA4、RipA5、RipB、RipD、RipE1、RipF1、RipG5、RipG7、RipH2、RipR、RipU、RipW、RipZ、RipAB、RipAC、RipAD、RipAI、RipAJ、RipAN、RipAO、RipAY 等(在所有 RSSC 中均保守的 22 个核心 T3Es)干扰植物防御^[19-20]。同时, T6SS^[21]、AHL^[22]、植物激素^[23]等也能发挥毒力作用, 此时植物出现过敏症状(图 2)。

侵染末期, RSSC 从维管束进入木质部, 一部分 RSSC 在木质部中进行浮游运动; 另一部分利用颤搐运动沿着管壁进行移动, 最终 RSSC 充满整个木质部, 并通过 T2SS 释放 EPS, 堵塞导管并阻碍水分运输^[18,24]。叶子在蒸腾作用下, 水分无法向上运输到叶面, 导致寄主植物叶面失去光泽, 叶绿素褪色, 叶面变黄, 缺水卷缩等病症, 进而整棵植株枯萎, 叶片干枯脱落, 将其根或茎解剖后切口处有白色菌脓, 木质部有褐色条纹甚至变黑, 将其置于无菌水中有喷菌现象^[10,25]。最终, 寄主根系和与地面接触的茎部 RSSC 被释放到土壤中, 植物内部的 RSSC 细菌会在土壤中重新恢复腐生状态, 等待新一轮寄生过程(图 2)。

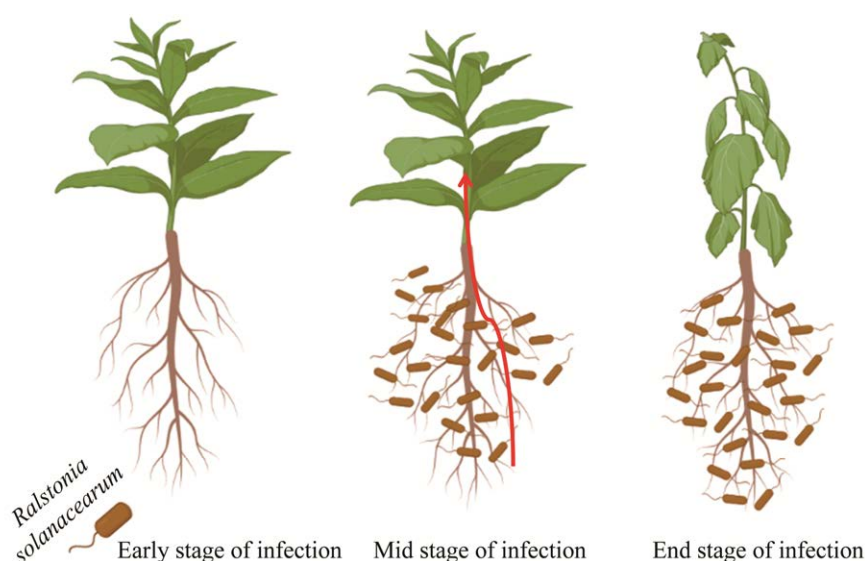


图2 寄主植物感染RSSC不同阶段病状模式图 红色箭头代表入侵方向

Figure 2 Pathological patterns of host plants infected with RSSC at different stages. The red arrow represents the direction of invasion.

2 茄科劳尔氏菌复合体毒力调控网络

RSSC毒力因子的表达与毒性存在相关性,包括调控病害发展、保护病原菌逃避宿主防御、协助病原菌在寄主植物体内扩散,其表达主要依赖于RSSC的毒力调控网络。RSSC利用复杂的毒力调控网络侵入寄主植物体内并导致植物枯萎死亡,其调控网络主要是由6类基因(*phc*、*phr*、*vsr*、*sol*、*xps*和*eps*)控制,主要调控RSSC的运动(鞭毛、菌毛),毒力因子(CWDEs、T3Es、EPS等)和群体信号因子(3-OH PAME、3-OH MAME、AHL)的合成,以及物质的运输(T2SS、T3SS以及T6SS),见表1。

2.1 运动

RSSC定殖在植物组织中并进入维管束,主要采用泳动(swimming motility)和颤搐(twitching motility)两种运动模式。泳动是通过趋向蛋白的*cheA*和*cheW*两种基因控制鞭毛螺旋方向,使RSSC具有趋向性,帮助RSSC有

效接触目标寄主部位^[18]。此外,RSSC能通过IV型菌毛(type IV Pili, T4P)做颤搐运动,这种运动不依赖鞭毛,能有效帮助RSSC在寄主植物组织中进行黏附、聚集、定殖、逃避植物防御并获取营养物质^[18]。这两种运动方式在RSSC侵染中具有重要作用,缺失任意一种均能导致RSSC致病力的下降,如图3所示^[18]。

2.1.1 鞭毛与泳动

鞭毛(flagellum)是负责运动的螺旋丝状细胞结构,通过控制其螺旋体旋转方向推动细菌做趋向性运动,使细菌到达最佳寄主部位并进行定殖、入侵和扩散^[26]。鞭毛通常被分为3个部分:(1)基体(basal body),包含螺旋体;(2)鞭毛钩(hook);(3)鞭毛丝(filament),由鞭毛蛋白基体FliC螺旋缠绕形成的中空管状结构^[26],如图3所示。

RSSC的泳动由1—4个极性鞭毛介导,鞭毛蛋白基因*fliC*或*fliM*的突变体将不能运动,回接番茄后其致病力显著下降^[26]。RSSC的趋向性主要由*fli-che*基因组成的通路实现,首先膜

表 1 RSSC 致病相关基因及蛋白质

Table 1 RSSC pathogenic related genes and proteins

Classification	Gene name	Protein name
phc	<i>phcA</i>	HTH-type transcriptional regulator PhcA
	<i>phcB</i>	SAM-dependent methyltransferase PhcB
	<i>phcK</i>	Putative sensor histidine kinase
	<i>phcR</i>	Histidine kinase
	<i>phcS</i>	Histidine kinase
Prh	<i>prhA</i>	Outer membrane receptor, type III secretion system
	<i>prhG</i>	Response regulator protein
	<i>prhI</i>	Sigma factor transcription regulator protein sigma
	<i>prhJ</i>	Transcription regulator for hrp genes expression hrp
	<i>prhN</i>	Putative MarR-type transcription regulator
	<i>prhO</i>	Putative LysR-type transcriptional regulator PrhO
	<i>prhP</i>	Phenolic acid decarboxylase regulator
	<i>prhR</i>	Regulatory protein
	<i>hrpB</i>	Type III secretion system regulatory protein
	<i>hrpG</i>	Transcriptional regulator of hrp gene cluster, OmpR family
	<i>hpaP</i>	Hrp associated protein HPAP
	<i>npdA</i>	NAD-dependent protein deacylase
	<i>rsgA</i>	Small ribosomal subunit biogenesis GTPase
Eps	<i>epsA</i>	EPSI polysaccharide export outer membrane protein EpsA
	<i>epsB</i>	Putative tyrosine-protein kinase
	<i>epsC</i>	UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase
	<i>epsD</i>	NDP-N-acetyl-D-galactosaminuronic acid dehydrogenase
	<i>epsE</i>	EPSI polysaccharide export inner membrane protein EpsE
	<i>epsF</i>	EPSI polysaccharide export inner membrane protein EpsF
	<i>epsP</i>	Protein-tyrosine-phosphatase
	<i>epsR</i>	Negative regulator of exopolysaccharide production protein
	<i>gdhA</i>	NADP-specific glutamate dehydrogenase
	<i>lecM</i>	Encoding a lectin LecM
	<i>ralA</i>	Furanone synthase
	<i>xpsR</i>	Transcription regulator xpsr protein
Sol	<i>rpoS</i>	RNA polymerase sigma factor RpoS
	<i>solI</i>	Acyl-homoserine-lactone synthase
	<i>solR</i>	Transcriptional activator protein
Vsr	<i>vsrBC</i>	Sensor kinase/Response regulator
	<i>vsrAD</i>	Sensor kinase/Response regulator
Peh	<i>pehSR</i>	Protein kinase homolog
T6SS	<i>hcps</i>	Hemolysin co-regulatory protein
	<i>tssB</i>	T6SS contractile sheath small subunit
	<i>tssM</i>	T6SS membrane subunit
	<i>vasK</i>	T6SS cluster protein VasK
	<i>vgrG</i>	T6SS system tip protein VgrG

(待续)

(续表 1)

Classification	Gene name	Protein name
Swimming motility	<i>cheA</i>	Chemotaxis protein
	<i>cheW</i>	Chemotaxis protein
	<i>cheY</i>	Chemotaxis protein
	<i>flhDC</i>	Flagellar transcriptional regulator
	<i>fliC</i>	Flagellin
	<i>fliM</i>	Flagellar motor switch protein
	<i>motN</i>	Negative regulator of motility
Twitching motility	<i>hrpY</i>	Hrp pilus subunit hrpy protein hrp
	<i>lrpE</i>	Leucine-rich repeat domain-containing protein
	<i>pilA</i>	Pilin monomer
	<i>pilQ</i>	Adventitial secretin
	<i>pilT</i>	Pili contractile protein
	<i>tapV</i>	type 4 pili (T4P) assembly protein
CWDEs	<i>chbA</i>	Exoglucanase
	<i>egl</i>	Endoglucanase
	<i>pehA</i>	Polygalacturonase signal peptide protein
	<i>pehB</i>	Exo-poly-galacturonase signal peptide protein
	<i>pehC</i>	Polygalacturonase transmembrane protein
	<i>pme</i>	Pectin methylesterase
Others	<i>aroG1/aroG2</i>	Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase
	<i>cysB</i>	CysB family HTH-type transcriptional regulator
	<i>hrcV</i>	Hypersensitivity response secretion protein
	<i>lptC</i>	LPS export ABC transporter periplasmic protein LptC
	<i>phcK</i>	The putative sensor histidine kinase PhcK
	<i>nucA/nucA</i>	exDNases: DNA degrading enzymes
	<i>RSc0454</i>	FAD-linked oxidase based on protein homologies

蛋白受体甲基接受趋化蛋白(methyl-accepting chemotaxis proteins, MCPs)感应并结合寄主植物的特定化学信号,从而触发 CheA 磷酸化,与 CheW 形成复合物,将 CheA 磷酸基团转移到 CheY,这是一种能扩散的细胞质反应调节剂,与 FliM 蛋白结合,鞭毛螺旋体构象发生变化,RSSC 向寄主植物做趋向性运动^[27-28]。其中,*cheA* 和 *cheW* 是 RSSC 趋向性的关键基因,研究发现,RSSC 的 *cheA* 和 *cheW* 突变体都具有运动性,但无趋向性,其毒力与完全不能运动的 *fliC* 突变体一样低,均无法正常地侵染寄主植物^[18,29]。RSSC 通过趋向性运动接触目标寄主

部位后,鞭毛能帮助 RSSC 黏附在寄主表面,并分泌 exDNases 等致病因子,降解和杀死寄主植物细胞,帮助 RSSC 逃离寄主植物的防御机制,通过构建编码 exDNases 的 *nucA* 和 *nucB* 基因的突变体,回接寄主植物后其致病力下降明显^[30],如图 3 所示。

另外,RSSC 运动性受 *flhDC* 基因调控,该基因能控制鞭毛蛋白的合成,其突变体菌株致病力显著下降^[31]。而且,*flhDC* 受蛋白激酶 *pehSR* 双组分系统正调控,激活下游鞭毛蛋白编码基因 *fliC* 和 *fliM* 表达,从而促进 RSSC 泳动,帮助 RSSC 有效侵入寄主植物^[31]。同时,*flhDC*

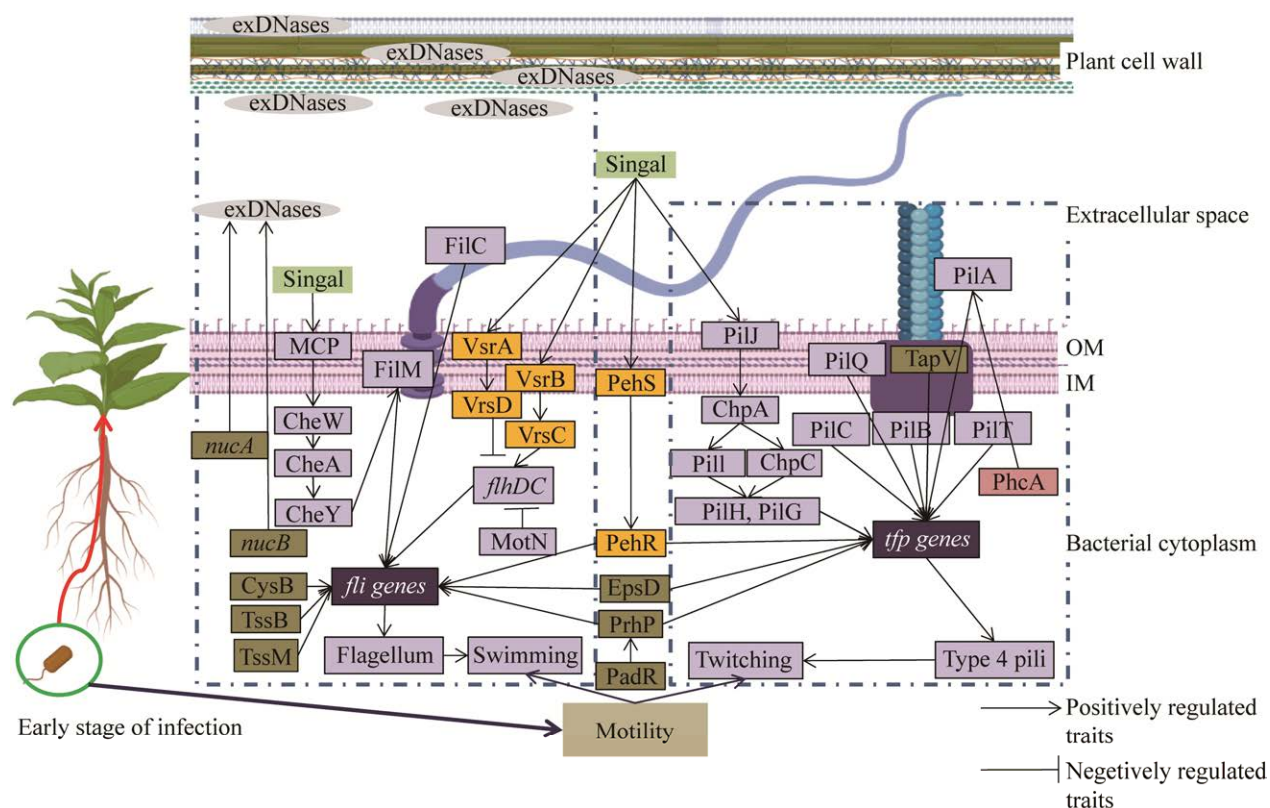


图3 侵染初期 RSSC 毒力调控网络模式图

Figure 3 The network pattern of RSSC virulence regulation at the early stage of infection.

被反应调节剂 *vsrBC* 双组分系统正调控, 被反应调节剂 *vsrAD* 双组分系统及运动调节剂 *motN* 负调控^[32]。近年来, 众多学者研究发现, 在 RSSC 中, 非调控鞭毛蛋白基因 *cysB* (编码 CysB 家族 HTH 型转录调节因子)^[33]、*tssB* (编码 T6SS 收缩鞘小亚基)^[34]、*tssM* (编码 T6SS 膜亚基)^[35]、*epsD* (编码 NDP-N-乙酰基-D-半乳糖胺糖醛酸脱氢酶)^[36-37]、*prhP* (编码酚酸脱羧酶调节剂)^[38] 突变体其泳动性均降低, 致病性均显著下降, 表明 RSSC 泳动被众多已知和未知因子调控, 是一个复杂的调控网络, 如图 3 所示。

2.1.2 菌毛与颤搐

菌毛(pili)是一种从细胞表面延伸且短于鞭毛的长丝状结构, 其通常由菌毛亚基蛋白(pilin)聚合形成, 起到黏附作用, 一些菌毛还能参与

生物膜形成、噬菌体转导、DNA 摄取, 同时介导一种特殊形式的细菌运动——颤搐^[39]。与鞭毛不同, 菌毛类别根据它们的组装途径来区分, 包括 hrp 菌毛、V型菌毛、IV型菌毛(T4P)、卷毛、IV型分泌菌毛等^[40]。其中, T4P 是包括 RSSC 在内的革兰氏阴性细菌重要毒力因子, 实现 RSSC 颤搐运动, 帮助 RSSC 黏附和聚集在寄主细胞上^[41]。其结构蛋白基因 *pilA*、*pilQ* 和 *pilT* 分别表达菌毛蛋白单体、参与菌毛运动的外膜促胰液素和菌毛收缩蛋白, 失去任意一种都将降低 RSSC 颤搐性和菌株毒力^[42], 如图 3 所示。

RSSC 的 T4P 具有类似于鞭毛的运动通路, 该通路由 *pil-chp* 基因编码。细胞膜相关受体蛋白 PilJ 识别植物信号分子后激发 CheA 同系物

ChpA 磷酸化, 形成 2 个 CheW 同系物复合物 PilI 和 ChpC, 使得 2 个 CheY 同系物 PilG 与 PilH 磷酸化, 并与 T4P 相互作用, 从而调控 RSSC 的颤搐运动^[43]。研究表明, 缺失 *pilI* 或 *chpA* 基因的 RSSC 能表现出正常的泳动和趋向性, 但细胞膜的形成发生改变, 并降低了 RSSC 颤搐运动性和附着能力, 这 2 种突变体浸泡番茄根部后毒力均显著降低^[18,43]。除此之外, 研究者对 *R. solanacearum* GMI1000 的 T4P 组装蛋白 TapV 进行敲除后, 发现其颤搐性和对番茄根部的黏附能力显著受损, 与 *pilA* 突变体表型一样^[44]。同时, *pehSR*^[45]、*phcA* (HTH 型转录调节因子)^[45]、*epsD*^[36-37]、*prhP*^[38]等基因对 RSSC 颤搐运动均有影响, 如图 3 所示。

RSSC 除了 T4P 具有毒力外, hrp 菌毛同样具有毒力。Murata 等^[46]发现, *lrpE* (富含亮氨酸

重复结构域蛋白质基因)突变体的毒力活性略低于野生型 RSSC, 并提出 LrpE 负调控 RSSC 细胞表面 hrp 菌毛的产生, 将细菌从聚集体中分散出来有助于病原体在植物维管束中移动。这表明 RSSC 菌毛具有复杂性, 还有许多未知因素能够影响 RSSC 的颤搐和菌毛的形成。

2.2 细菌分泌系统与毒力调控网络

革兰氏阴性细菌已经进化出多种分泌系统, 可以将小分子蛋白质、DNA 和各种毒力因子转运到细胞外或靶细胞中, 提高细菌的黏附度、致病性、适应性和存活率。革兰氏阴性细菌的分泌系统可被分为两类, 双跨膜系统和单跨膜系统, 本文讨论的 T2SS、T3SS、T6SS 均属于双跨膜系统(图 4), 这 3 种分泌系统在 RSSC 致病机理中研究较多, 是重要的致病因子^[47-49]。

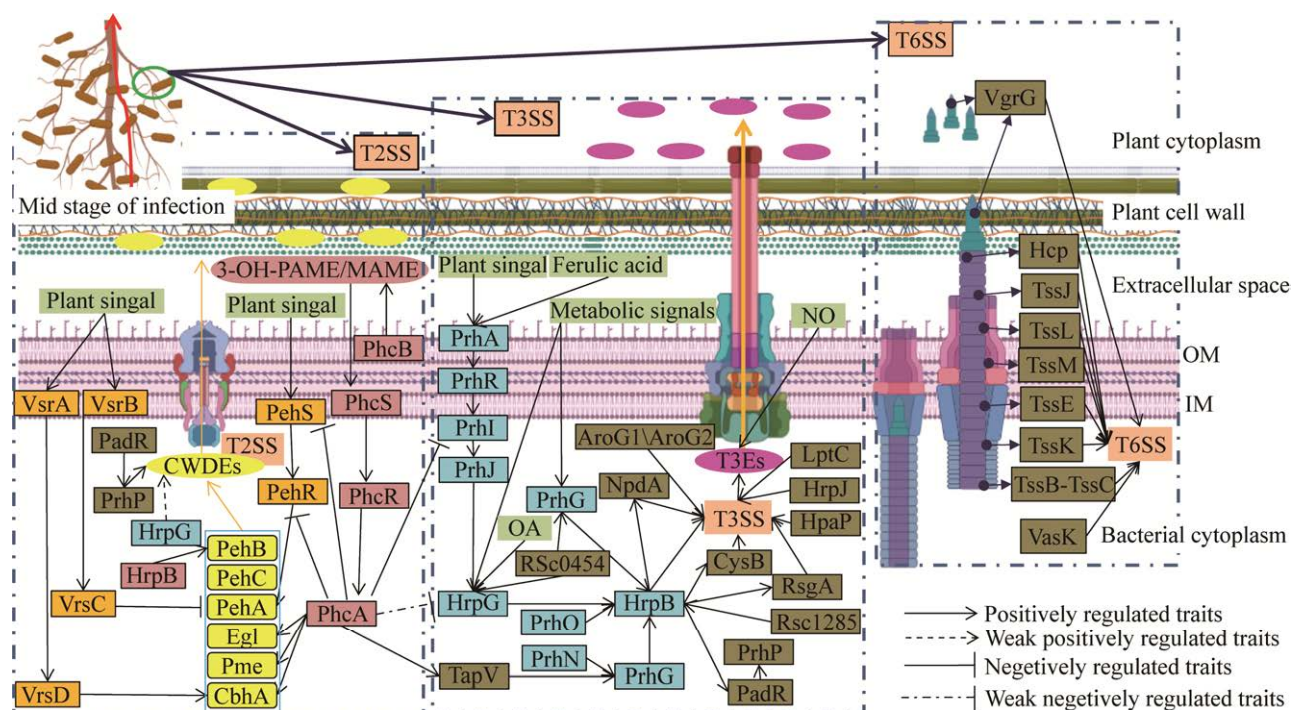


图 4 感染中期 RSSC 毒力调控网络模式图

Figure 4 Schematic diagram of RSSC virulence regulation network in the middle stage of infection.

2.2.1 II型分泌系统(T2SS)与 Phc 调控系统

T2SS 集中在 α 、 β 、 γ 和 δ 变形菌及拟杆菌和去铁细菌中^[50]。在许多人类和植物病原体中, 如鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌和 RSSC 等, T2SS 是其关键的毒力因子, 对病害发生和药物开发具有重要意义, 由细胞质 ATP 酶、内膜蛋白、周质假菌毛和嵌入外膜的促分泌素孔组成^[51]。其中, 周质假菌毛结构与 T4P 相似, 具有共同起源^[51]。主要采用两步法分泌底物, 首先将底物从细胞质中转移到周质空间, 再将底物分泌到细胞表面或细胞外环境中^[51]。底物包括各种水解酶(毒素、蛋白质和 CWDEs 等), 参与细菌的黏附、生物膜形成、养分获取、定殖和入侵, 从而赋予细菌致病性和物种生存优势^[51], 如图 4 所示。

在 RSSC 侵染中, CWDEs 均由 T2SS 从细胞内转运到细胞外, 研究发现 T2SS 突变体的 RSSC 在植物中的定殖能力和繁殖能力严重受损, 但尚不清楚是由于缺乏所有 CWDEs 还是由于分泌系统的丢失所造成^[52]。通过构建 CWDEs 突变体发现 RSSC 仅缺少果胶酶(PehA、PehB、PehC 和 Pme)的毒力有所下降, 但不具有统计学意义, 而缺乏一种或两种纤维素酶(Egl 或 CbhA)的突变体, 植物萎蔫明显比野生型慢^[52]。这表明纤维素酶是 RSSC 毒力的关键因子。

在 RSSC 中, CWDEs 的生产主要由 PhcB-PhcS-PhcR-PhcA 通路(Phc 调控系统)介导, 其中, *phcA* 是重要的调控基因^[53]。在 Phc 调控系统中, *phcA* 的表达水平由 PhcBSR (PhcB、PhcS、PhcR)控制, 其中, PhcB 能合成 3-OH PAME, 这是一种群体感应信号(QS), 在 RSSC 侵染过程中发挥重要的作用^[47,54]。然而 PhcS 和 PhcR 组成 PhcSR 双组分调控系统, 通过提高 PhcA 表达水平来响应 3-OH PAME 阈值浓度^[47,54]。细菌浓度低(定殖初中期)时, 3-OH

PAME 并不产生, 因此 PhcA 调节系统不被激活, 这种情况下细菌具有运动性, 并且不影响 T3Es 表达水平; 细菌浓度高(在定殖中后期, RSSC 浓度 $>10^6$ CFU/g)时, 3-OH PAME 在胞外积累, 激活 *phcA*, 正调控 CWDEs (Egl、CbhA、Pme)产生, 同时, 负调控 *pehSR* 和 T3Es 表达^[47,54]。

另外, PehA 主要由 PehSR 和 VsrBC 双系统正调控, CbhA 能够由 VsrAD 双系统正调控, PehB 能由 III 型分泌系统调节蛋白基因 *hrpB* 正调控^[45,47]。同时, 最新研究表明, 外膜蛋白(outer membrane proteins) OmpR 家族 *hrp* 基因簇的转录调节因子 HrpG 能够微调控 CWDEs 的产生, PrhP 突变体 RSSC 的产 CWDEs 能力下降^[47]。这表明, T2SS 分泌的 CWDEs 由复杂调控网络, 主要由 Pch 调控系统控制, 但同时 Prh 调控系统也能通过 HrpB、HrpG 对 CWDEs 进行调控, 此外还有许多未知的调控因子需要进一步研究, 如图 4 所示。

2.2.2 III型分泌系统(T3SS)与 Prh 调控系统

T3SS 最早于 1998 年由 Kubori 等^[55]首次观察到, 其结构呈注射器状, 跨越整个细菌细胞膜和细胞壁, 由双跨膜基体和针状细丝组成。当病原体与寄主细胞接触后, T3SS 构象发生变化, T3Es 通过针状细丝运输, 直接转移到目标真核细胞的细胞质或质膜中, 调节或破坏特定的寄主细胞功能, 从而促进病原体的定殖和入侵^[56]。

T3SS 存在于包括 RSSC 的各种致病性革兰氏阴性细菌中, 是 RSSC 重要的毒力决定因素, 可以将 RSSC 的几十种 T3Es 直接转移到寄主细胞中, 破坏或激活寄主的防御反应, 并改变寄主的新陈代谢以促进毒力, 最终引起寄主感病或非寄主产生过敏反应(hypersensitive response, HR)^[57]。其中, RipG、RipS、RipA、RipH 和 RipP 等被认为是 RSSC 重要的 T3Es 毒力因子, 能阻止其他效应因子被识别, 干扰植物免疫和

植物代谢并通过未知机制产生毒力, 同时还能触发植物免疫反应^[58]。对 140 个 RSSC 菌株基因组进行的研究确定了 RSSC 具有 102 个 T3Es 和 16 个假定 T3Es, 平均每株 RSSC 携带 64 个 T3Es (*R. syzygii* subsp. *syzygii* 菌株 R24 中最少, 45 个; *R. pseudosolanacearum* 菌株 Rs-10-244 中最多, 76 个)^[59]。这表明 RSSC 中存在大量的 T3Es, 在其致病过程中具有不可替代的作用。

RSSC 的 T3Es 相关基因最早于 1990 年被克隆, 由位于大质粒上 *hrp* (hypersensitive response and pathogenicity) 基因簇编码的 AraC 家族转录调节子 HrpB 调控, 进而影响 RSSC 致病性^[47,60]。*hrpB* 主要通过 PrhA-PrhR-PrhI-PrhJ-HrpG-HrpB 通路(Prh 调控系统)介导, 外膜蛋白 PrhA 捕捉外界信号, 并通过 Prh 调控系统激活 *hrpB* 转录表达; 同时, PrhG 能直接感知外界信号, 直接激活 *hrpB* 转录表达, 进而通过 *hrpB* 调控 T3SS 和 T3Es 相关蛋白基因表达^[47]。其中, 外界信号包括寄主植物信号或其他代谢相关信号等, 如代谢信号 NO、植物信号齐墩果酸 (oleanolic acid, OA) 和羟基肉桂酸阿魏酸 (hydroxycinnamic acid ferulic acid, FA) 等均能激活 T3SS 表达^[61-62]。此外, T3Es 的分泌能被 *lptC* (编码 LPS 输出 ABC 转运蛋白周质蛋白)^[63]、*hrcV* (编码超敏反应分泌蛋白)^[59]、*hpaP* (编码 Hrp 相关蛋白)^[64]、*cysB*^[33]、*npdA* (编码 NAD 依赖性蛋白质脱酰基酶)^[65]、*aroG1/aroG2* (编码磷酸-2-脱氢-3-脱氧庚酸醛缩酶)^[66]等基因调控, 如图 4 所示。

在 Prh 调控系统中, HrpG 是重要调控因子, 主要通过自身天冬氨酸残基的磷酸化对外界信号做出应答并激活 HrpB 的转录表达, 但也有研究表明 HrpG 控制着相当多与 T3SS 无关的基因表达且独立于 HrpB, 这些基因可能涉及植物-病原菌互作等, 对果胶酶和纤维素酶的活性

有轻微影响, HrpG 能通过增加胞外多糖产生蛋白的负调节剂 EpsR 水平来轻微抑制 EPS 产物, 同时, 对黏附因子(LecM 凝集素)的产生也有影响^[67-68], 如图 4、图 5 所示。

近年来的研究表明, *hrpB* 可以通过 PchA-TapV-PrhG-HrpB 通路来调控 T3SS 及 T3Es 基因的转录表达, 特别是 *pchA* 还能对 Prh 调控系统中调节蛋白 PrhI 和 HrpG 进行负调控^[44]。此外, 小核糖体亚基 RsgA 能通过 PrhN-PrhG-HrpB-RsgA 途径影响 T3SS 表达^[69]; 转录调节器 PrhN 通过 PrhG 和 HrpB 正向调节 T3SS 的表达^[70]; 假定的 LYSR 型转录调节器 PrhO 通过 HrpG 正向调节 T3SS 的表达^[71]; FAD 氧化连接酶 RSc0454 (FAD-linked oxidase based on protein homologies)通过调控 *hrpG* 和 *prhG* 从而控制 T3SS 的表达^[72]; RSc1285-连接氧化酶缺失突变体致病力明显减弱, 其 *hrpB*、T3SS 等基因表达水平较野生型明显降低^[73]。除分泌 T3Es 外, T3SS 还能分泌某些调节剂增强 RSSC 毒力, 如 PrhP 作为青枯菌中水杨酸(salicylic acid, SA)解毒的正调节剂, 由 HrpB 介导, 能正向调控 SA 和 FA 降解基因、III型分泌系统(T3SS)、III型效应子基因和鞭毛、IV型菌毛和细胞壁降解酶的表达^[38], 如图 4 所示。

2.2.3 VI型分泌系统(T6SS)

T6SS 在 2006 年被定义, 广泛分布在变形菌门中, 是一种双跨膜分泌系统, 可将毒性效应蛋白直接转移到真核和原核细胞中, 在侵染寄主发病和细菌竞争中发挥关键作用^[74-77]。主要由膜复合物与尾部复合物组成, 尾部复合体与缩噬菌体尾部的结构相似: 由尾鞘、内管和底板组成, 并通过膜复合物锚定在寄主细胞膜上^[74-77]。其中, 尾鞘是一个长管状结构, 能刺穿细胞膜和细胞壁, 进入寄主细胞质中并释放效应子蛋白, 具有调节细胞的多种功能, 不同

的是 T6SS 分泌底物 N 端均无信号肽序列, 通过 T6SS 分泌出的效应蛋白均不能由其他分泌系统运输^[74-77], 如图 4 所示。

目前, T6SS 系统尖端蛋白 VgrG 和溶血素协同调节蛋白 Hcps 被证明是通过该系统分泌的主要蛋白。VgrG 分子具有双重功能, 可以组装成一个类似于 T4 噬菌体尾尖的三聚体复合物, 刺穿宿主细胞结构^[78]。Hcps 蛋白在胞外可以形成六聚环的结构, 并且能在细菌细胞表面组装成一个通道, 延伸或包围 VgrG 蛋白并形成管道, 从而使得其他效应分子运输到寄主细胞中^[78], 如图 4 所示。

近年来, 关于 RSSC 的 T6SS 研究主要集中在其结构蛋白上。研究发现, *R. solanacearum* GMI1000 菌株敲除 *tssB* 和 *tssM* 基因均能导致其生物膜形成缺陷, 鞭毛操纵子的表达降低, 运动能力下降, 显著减弱了其对番茄植株的毒力^[34-35]; 敲除其 T6SS 簇蛋白编码基因 *vasK* 和肽聚糖相关蛋白编码基因 *ompA* 后发现致病性较野生型明显下降^[79]。这表明 T6SS 在 RSSC 侵染中发挥着重要的毒力作用, 如图 4 所示。

2.3 胞外多糖(EPS)与 *xpsR* 和 *epsR* 调控基因

细菌 EPS 主要包括 Pel 多糖、Psl 多糖、海藻酸钠、聚乙烯葡萄糖胺和凝胶多糖等, 是细菌分泌的高分子聚合物, 增强其对氧化、干燥及宿主防御等胁迫的抵抗能力并赋予其生长优势^[80]。在 RSSC 中, EPS 是宿主萎蔫和死亡所必需的致病因子, 有的 EPS 分泌到胞外后依附于微生物细胞壁形成荚膜, 成为荚膜多糖; 有的分泌到胞外后形成黏液, 称为黏液多糖, 帮助 RSSC 避免或降低植物的识别和防御, 并促进其对周围水分与养分的吸收^[24]。其合成主要受 *eps* 基因簇控制, 存在 7 个与 EPS 合成相关的结构基因, 分别是 *epsA* (EPSI 多糖蛋白 EPSA)、*epsP* (蛋白质酪氨酸磷酸酶)、*epsB* (推定的酪氨

酸-蛋白激酶)、*epsC* (UDP-N-乙酰氨基葡萄糖 2-差向异构酶)、*epsD* (NDP-N-乙酰基-D-半乳糖胺糖醛酸脱氢酶)、*epsE* (EPSI 多糖蛋白 EPSE) 和 *epsF* (EPSI 多糖蛋白 EPSF)^[81]。研究表明, *epsC* 和 *epsD* 突变体菌株的胞外多糖含量显著减少, 生长较慢, 其运动(泳动和群集)能力降低, 回接寄主后其定殖和致病力显著降低^[24,36]。因此, *eps* 基因在 RSSC 致病过程中对其运动和产 EPS 等均具有重要作用, 如图 5 所示。

eps 被 10 多个基因调控, 主要核心调控通路由 Phc 系统介导。在发病后期, RSSC 在导管内大量增殖并扩散至整株, 当导管内细菌密度达到 $>10^7$ CFU/g 时, PhcB 合成 3-OH PAME 或 3-OH MAME, 均作为 QS 在胞外累积, 激活 PhcS 和 PhcR 产生足够多 PhcA, 从而激活 *xpsR* 正调控 *eps* 基因产生更多的 EPS, 以黏液状存在于菌体周围, 帮助 RSSC 扩散、定殖并堵塞维管束系统, 被侵染的植物表现出萎蔫症状^[82]。同时, PhcA 能正调控呋喃酮合酶基因 *ralA* 的表达, 以产生芳基呋喃酮次级代谢物 ralfuranone 分泌到细胞外, 进而影响 PhcA 表达, 研究发现 *ralA* 的缺失导致 *vsrAD* 和 *vsrBC* 的表达下调, 影响 EPS 的产生^[83-84]。其中, *vsrAD* 能正调控 *xpsR* 进而促进 *eps* 表达, 同时 *vsrBC* 能直接正调控 *eps* 表达^[24], 如图 5 所示。

另外, Prh 调控系统能通过调控 hrpG 进而影响 EPS。在 RSSC 中, HrpG 通过诱导 *lecM* 表达影响 EPS。凝集素(LecM)有助于 RSSC 附着于细胞间隙并影响 3-OH MAME 的浓度, 进而影响 EPS 的产生^[68]。在 *lecM* 突变体中, 细胞外 3-OH MAME 和 Ralfuranone 含量显著低于野生型, 但 *phcB* 和 *phcA* 的表达水平与野生型相比无显著性差异而且表现出更大的游泳动力^[68]。HrpG 能直接正调控 *epsR* 表达, 从而抑制 EPS 的合成^[45,47], 如图 5 所示。

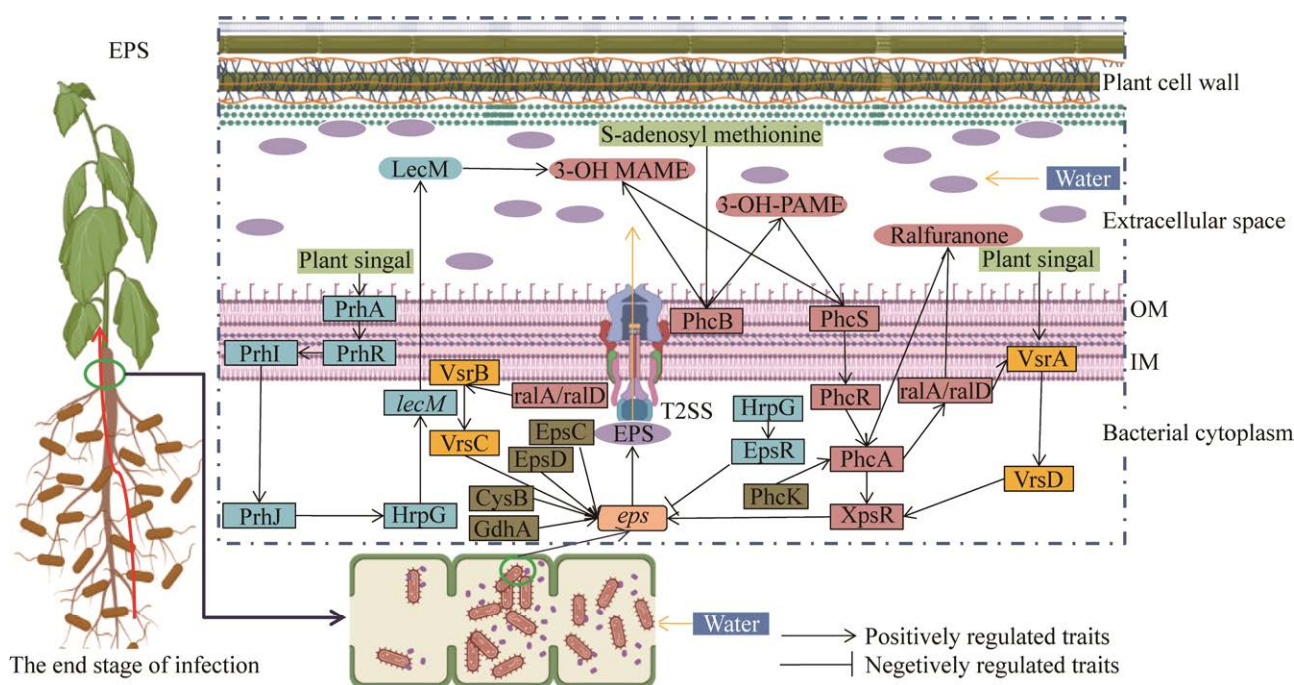


图5 侵染后期 RSSC 毒力调控网络模式图

Figure 5 Diagram of the network pattern of RSSC virulence regulation at the late stage of infection.

近年来的研究发现,推定的传感器组氨酸激酶 *PhcK* 突变体产生的 EPS 和 ralfuranone 明显少于野生型菌株,并推测 *phcK* 是 *phcA* 完全表达所必需的,从而驱动 RSSC 的 QS 通路^[85]。谷氨酸脱氢酶 *gdhA* 突变体的繁殖速度和病害发展比野生型慢,推测 *gdhA* 是 RSSC 中多种代谢功能所必需的,包括毒力因子 EPS 的正常产生^[86] (图 5)。这表明 EPS 调控网络极其复杂。

2.4 群体信号因子 AHL 与 *sol* 调控系统

QS 是细菌细胞间的通信机制,这种机制依赖于细胞间密度。细胞低密度时,细胞分泌的信号分子少,随着细菌细胞密度的增加信号分子积累,达到阈值后细菌会感知信号分子,从而启动一系列生物活动^[87]。这种调节机制通常被病原体用来调控毒力因子和适应环境变化的基因表达^[22]。这些信号分子控制多种功能的基因表达。例如,生物膜形成、毒素产生、胞外多糖合成、胞外酶产生、运动性等,植物病原

细菌中 QS 在调节毒力因子产生和侵染过程中起主要作用^[22]。

在 RSSC 中主要有两大群体感应系统,上述中 3-OH PAME、3-OH MAME 均为 Phc 调控系统中的 QS,被称为 *phcQS* 感应系统;其次为 *sol* 调控系统构成的 LuxR/I 群体感应系统^[22]。该系统最早在费氏光杆菌(*Photobacterium fischeri*)中发现,其蛋白质家族合酶 LuxI 产生酰化高丝氨酸内脂(AHL),当 AHL 到临界浓度时,扩散到细胞内与转录调节子 LuxR 结合并激活其他毒力调控因子^[22]。以 AHL 为中心的密度依赖性信号系统在革兰氏阴性细菌中很常见,可能是一种“通用信号”,之前提出的 10 种具有重大经济和科学意义的植物病原菌中均发现 AHL^[1]。

在 RSSC 中, AHL 群体感应系统由 *solI* 编码,受 *pchA* 直接调控,它们分别是 *luxR* 和 *luxI* 同系物^[88]。SolR 能调控 *aidA* 的表达,关于 AidA 蛋白的功能尚不清楚,在自然土壤浸泡接种试

验中,*aidA* 突变体毒力和生存能力有所下降^[89]。此外, *solR* 和 *solI* 是 3-OH-PAME 调节因子之一, 控制着 RSSC 的表型转换, 并且在 RSSC 中可能具有毒力作用, 但 *solR* 和 *solI* 突变体回接到切开的叶柄中仍能保持完整毒力^[87], 如图 6 所示。

其他植物病原细菌如胡萝卜球菌 *Pectobacterium caroloorum* (Pcc) 和丁香假单胞菌 *Pseudomonas syringae* (Ps) 中, AHL 是重要的群体信号因子^[90]。在 Pcc 中 AHL 是细胞间毒力的核心调节因子, 可以与转录激活蛋白基因 *carR* 和 *expR* 相互作用, 从而调节 T3SS、植物细胞壁降解酶(CWDEs)和抗生素的产生, 此外, LuxI 合酶同源物 *EspI* 能诱导 AHL 信号分子积累^[91]。在 Ps 中, 细胞间通信系统由 *CacA/S* 系统的毒力控制因子 *AhlI/R* (LuxI/R 同源) 控制, 并由 *TesR* 家族转录调节激活剂 *AefR*^[92]。AHL

与 AhlR 相结合并调节 Ps 的海藻酸盐和 EPS 的产生及细胞泳动性, AHL 对 Ps 细胞间毒力的调控和提高存活率至关重要^[93]。这表明 RSSC 分泌的 AHL 可能与其他病原菌存在协同作用, 如图 6 所示。

3 植物激素

植物激素作为细胞信号分子在植物生长、发育和繁殖的调节中具有关键作用, 而体内激素失衡则会导致植物生长异常, 如矮化、脱落、增生等^[94-95]。植物激素之间能够相互影响, 细胞分裂素(cytokinin)正调控水杨酸(salicylic acid), 水杨酸负调控生长激素(auxin), 细胞分裂素和脱落酸(abscisc acid)是一对相互拮抗的植物激素, 赤霉素(gibberellin)与脱落酸具有协同作用, 但赤霉素同时能负调控水杨酸, 正调控乙烯(ethylene)合成^[96]。大多数病原菌对植

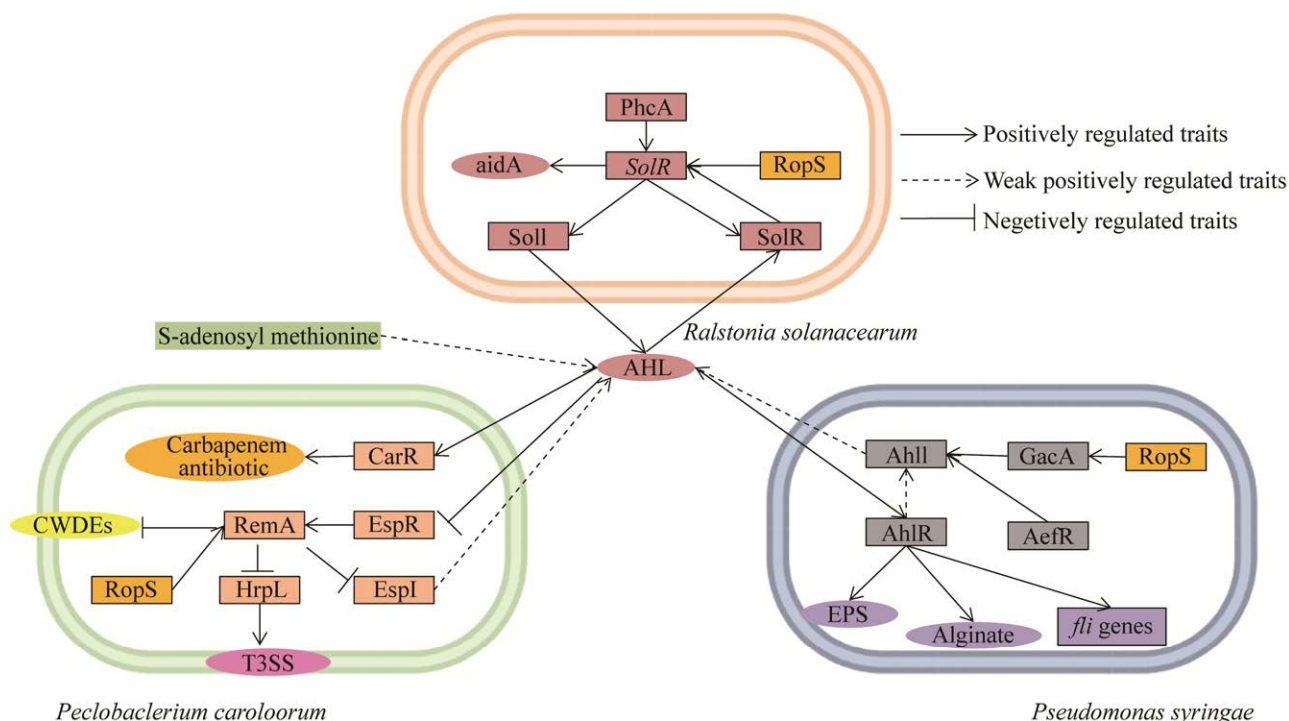


图 6 RSSC 与其他病原菌 AHL 调控模式

Figure 6 AHL regulation pattern of RSSC and other pathogenic bacteria.

物体内激素调控具有广泛影响,引起感染植物畸形,破坏寄主免疫力,改变栖息地环境,促进病原体传播^[97-98],如图7所示。

包括 RSSC 在内的许多植物细菌病原菌能合成植物相关激素,如细胞分裂素(cytokinins, CKs)、乙烯(ethylene, ET)、赤霉素(gibberellins, GAs)和生长素^[99]。大多数情况下,致病菌株合成这些分子有助于增强它们的毒力。其中,在 RSSC 致病研究中发现,CKs 被诱导表达是 RSSC 侵染的积极因素^[99-100]。辣椒在高温高湿下感染 RSSC 后,JA 信号传导被阻断,SA 信号传导和反式玉米素等被激活^[101]。CKs 合成基因 *ipt* 的有效激活会导致烟叶坏死病变和萎蔫,其描述与 RSSC 导致植物枯萎的现象相似^[102]。同时,在 Uniport 数据库中查询到 RSSC 具有 *tzs* 和 *RSc2087* 这 2 种细胞分裂素相关基因,以上均表明 CKs 对 RSSC 侵染寄主具有积极作用。

另外, RSSC 侵染烟草时其脱落酸(abscisic acid, ABA)含量增加 1 倍,而在 RSSC 基因注释中并未发现合成 ABA 相关基因,推测由烟草自身合成引起^[103]。同时,植物 ABA 受体基因损伤后能促进 RSSC 感染后的植物萎蔫症状,表明 ABA 信号正向调节青枯菌的根系防御^[15-16]。然而在植物激素中,CKs 与 ABA 是一对相互拮抗的激素,因此,通过利用 ABA 拮抗 CKs 能提高寄主对 RSSC 的抗病性。

4 问题与展望

近年来,研究者们对 RSSC 的致病基因和调控网络进行了深入研究,根据已有研究结果表明,可以将 RSSC 致病机理分为 5 个方面,即运动性、分泌系统、毒力基因调控网络、群体信号因子及植物激素或激素类似物。RSSC 能根据其需求调动不同的毒力系统,在未接触

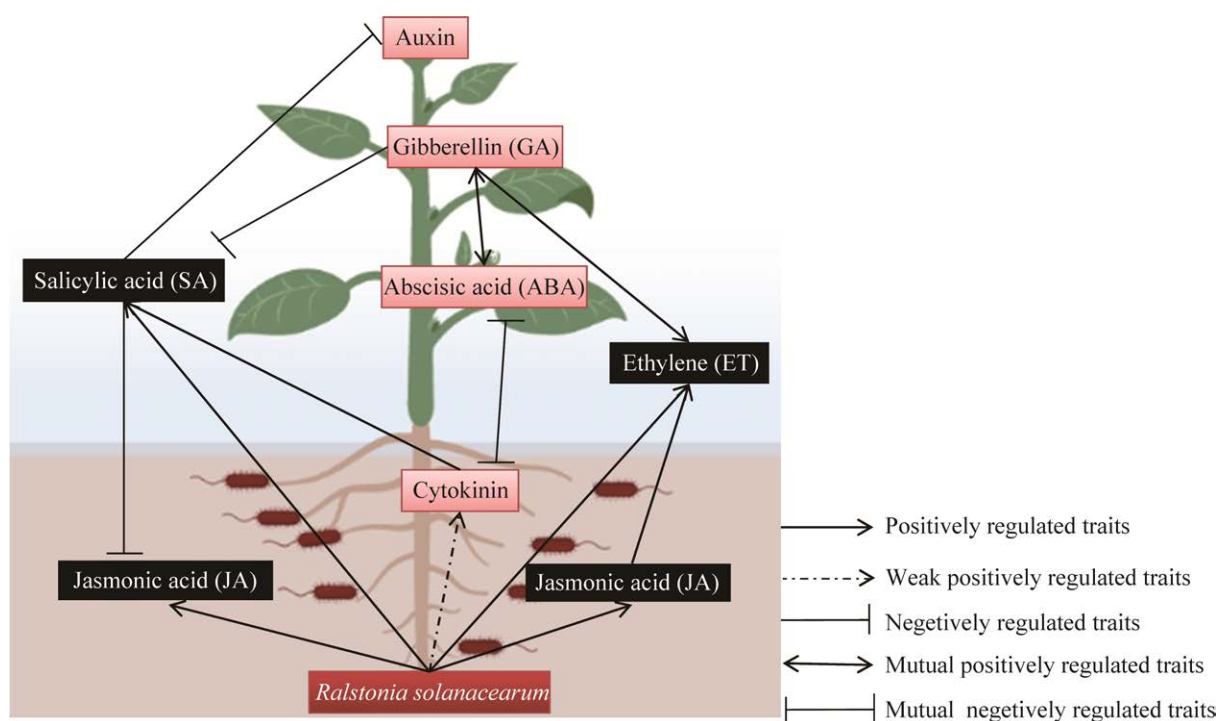


图7 RSSC 侵染过程中植物激素调控网络模式图

Figure 7 Schematic diagram of phytohormone regulatory network during RSSC infection.

寄主植物的侵染初期, RSSC 通过鞭毛介导的泳动向目标寄主部位迁移^[18]; 与目标寄主部位接触后, 通过细菌分泌系统(T2SS、T3SS 和 T6SS)及其毒力调控系统(Phc、Prh、Vsr、Peh 和 Sol)将 CWDEs、T3Es、毒力因子等释放到植物细胞壁上或细胞质内, 引起植物的过敏反应, 同时逃避植物防御机制, 并促使 RSSC 进入寄主体内迁往木质部^[48-49]; 进入木质部后, RSSC 大量繁殖, 并借助菌毛介导的颤搐或浮游运动扩散至整棵植株, 随着 RSSC 细胞密度的不断增高, 其群体信号因子 3-OH PAME、3-OH MAME 在细胞间不断累积, 触发 PchA 激活 *xpsR* 基因表达合成大量 EPS, 并通过 T2SS 释放到细胞外^[47,54]; EPS 将 RSSC 细胞、细胞残渣、代谢产物等相互黏合, 从而堵塞导管, 水分无法从根部向上运输, 导致寄主植物地上部分的枯萎死亡, 地下根部无法得到充足的养分, 进而整棵植物枯萎死亡^[82]。这些毒力系统之间并非互相独立, 而是相互影响的, 如 Perrier 等^[104]通过构建推定 MFS 型转运蛋白基因 *efpR* 突变体, 发现 RSSC 的泳动运动能力降低, 但颤搐运动性改善, 同时 EfpR 能控制许多其他毒力相关基因。根据上述发现, 敲除 EPS 合成相关基因 *epsC* 和 *epsD* 能导致 RSSC 运动性降低, 表明毒力系统之间会相互影响。

在 RSSC 中, T2SS 与 Pch 调控系统、T3SS 及 T3Es 与 Prh 调控系统研究报道非常多, 但仍存在许多未解决的问题。以果胶酶为例, 果胶是植物细胞壁重要的组成部分, 其中多聚半乳糖醛酸酶 PheC 的调控基因至今未知。此外, RSSC 果胶裂解酶 PopW (或 RipW)也需要进一步的研究。研究表明 PopW 虽然具有果胶裂解酶结构却无果胶裂解酶活性, 果胶酶结构域在 PopW 中起到的作用尚不可知^[105]。

EPS 是 RSSC 致病的关键因子, 其调控与

合成基因均能对 RSSC 毒力产生影响。在包括铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)的许多细菌中均含有第二信使分子 c-di-GMP (cyclic di-guanosine monophosphate), 能介导纤维素、Pel 多糖、Psl 多糖、海藻酸钠、聚乙酰葡萄糖胺和凝胶多糖等细菌胞外多糖的生物合成, 在 RSSC 中暂无关于 c-di-GMP 与 EPS 的报道^[106]。T6SS 的研究报道相较于其他 2 种分泌系统较少, 主要与细菌间的竞争有关, 如对拮抗 RSSC 的 *P. aeruginosa* 的研究发现其拮抗机制主要与 T6SS 相关^[107]。RSSC 是否能利用 T6SS 对具有竞争性的其他细菌产生威胁, 如常常作为益生菌应用在作物生长中的恶臭假单胞菌(*P. putida*)、荧光假单胞菌(*P. fluorescens*)等内生菌有待研究。

Sol 调控系统在 RSSC 侵染过程中的作用一直未研究清楚, 该系统产生的一种 AHL 群体信号因子在许多植物病原菌中均存在, RSSC 是否能通过 Sol 调控系统分泌足够多的 AHL 协同其他致病菌一同侵染有待明确。本课题组在桑树青枯病的研究中不仅分离到 RSSC, 还发现大量其他同样能造成桑树枯萎的病原菌如阴沟肠杆菌^[10,108-110]、菠萝泛菌^[111]及克雷伯氏菌^[112-113], 病原菌之间能否通过 AHL 协同 RSSC 侵染桑树还有待进一步研究。

大量研究证明, 植物激素能参与病原菌侵染过程, 如丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*)产生的生长素能阻断植物对病原体的防御^[114]。在 RSSC 中有研究发现 CKs 在 RSSC 侵染中表达量提高, 有学者认为这是植物免疫所致, 也有学者认为 CKs 能破坏寄主植物免疫^[115]。另外, 在 Uniport 数据库中查找到 2 种 RSSC 的细胞分裂素合成相关基因, 分别为: (1) 腺苷酸二甲基烯丙基转移酶 *tzs* (adenylate dimethylallyltransferase), NCBI 登录号为 WP_011004509.1, 其作用是参与细胞分裂

素反式玉米素生物合成, 将二甲基烯丙基基团转移到 AMP; (2) 细胞分裂素核苷 5'-磷酸磷酸核糖水解酶 *RSc2087* (cytokinin riboside 5'-monophosphate phosphoribohydrolase), NCBI 登录号为 NC_003295.1, 将无活性的细胞分裂素核苷酸直接转化为有活性的细胞分裂素。关于 CKs 对于 RSSC 的作用有待进一步研究。

致谢

感谢华南农业大学亚太地区蚕桑培训中心邹振华老师的帮助。

REFERENCES

- [1] MANSFIELD J, GENIN S, MAGORI S, CITOVSKY V, SRIARIYANUM M, RONALD P, DOW M, VERDIER V, BEER S V, MACHADO M A, TOTH I, SALMOND G, FOSTER GD. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(6): 614-629.
- [2] BAMAZI B, BANITO A, AYISAH KD, SIKIROU R, PARET ML, KUNWAR S, KAMDE K, TCHALLA P, SISTER-LOVE NAA. Distribution and incidence of tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in the central region of Togo[J]. *Plant Health Progress*, 2022, 23(2): 235-240.
- [3] TAN XD, DAI XQ, CHEN T, WU YS, YANG D, ZHENG YX, CHEN HL, WAN XR, YANG Y. Complete genome sequence analysis of *Ralstonia solanacearum* strain PeaFJ1 provides insights into its strong virulence in peanut plants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 830900.
- [4] GENG RM, CHENG LR, CAO CD, LIU ZW, LIU D, XIAO ZL, WU XM, HUANG ZR, FENG QF, LUO CG, CHEN ZQ, ZHANG ZC, JIANG CH, REN M, YANG AG. Comprehensive analysis reveals the genetic and pathogenic diversity of *Ralstonia solanacearum* species complex and benefits its taxonomic classification[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 854792.
- [5] de BOER SH. Book review: bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. Edited by ALLEN C, PRIOR P, HAYWARD AC. 2005. 510 pp. APS press, St. Paul, Minnesota, USA. ISBN 0890543291. US\$79.00[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2006, 114(2): 227-228.
- [6] WICKER E, LEFEUVRE P, de CAMBIAIRE JC, LEMAIRE C, POUSSIER S, PRIOR P. Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(5): 961-974.
- [7] SHARMA P, JOHNSON MA, MAZLOOM R, ALLEN C, HEATH LS, LOWE-POWER TM, VINATZER BA. Meta-analysis of the *Ralstonia solanacearum* species complex (RSSC) based on comparative evolutionary genomics and reverse ecology[J]. *Microbial Genomics*, 2022, 8(3): 000791.
- [8] DEY P, HOSSAIN I, MAHMUD H, DEY SK, HOSSAIN MD. Tomato seed borne *Ralstonia solanacearum* in Bangladesh[J]. *Russian Agricultural Sciences*, 2021, 47(4): 386-393.
- [9] SINGH N. *Ralstonia solanacearum*: an emerging threat as a mysterious plant pathogen[J]. *Current Science*, 2021, 120(1): 20-21.
- [10] 杨宏宇. 桑枯萎病病原鉴定及分子生物学研究[D]. 广州: 华南农业大学硕士学位论文, 2018.
YANG HY. Identification and molecular biology research of mulberry wilt pathogen[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [11] HAYASHI K, SENUMA W, KAI KJ, KIBA A, OHNISHI K, HIKICHI Y. Major exopolysaccharide, EPS I, is associated with the feedback loop in the quorum sensing of *Ralstonia solanacearum* strain OE1-1[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2019, 20(12): 1740-1747.
- [12] NIU Y, FU SY, CHEN G, WANG HJ, WANG YS, HU JX, JIN X, ZHANG MC, LU MX, HE YZ, WANG DD, CHEN Y, ZHANG Y, COLL NS, VALLS M, ZHAO CZ, CHEN Q, LU HB. Different epitopes of *Ralstonia solanacearum* effector RipAW are recognized by two *Nicotiana* species and trigger immune responses[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2022, 23(2): 188-203.
- [13] WANG LF, RONG W, HE CZ. Two *Xanthomonas* extracellular polygalacturonases, PghAxc and PghBxc, are regulated by type III secretion regulators HrpX and HrpG and are required for virulence[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 2008, 21(5): 555-563.
- [14] KUMAR S, AHMAD K, BEHERA SK, NAGRALE DT, CHAURASIA A, YADAV MK, MURMU S, JHA Y, RAJAWAT MVS, MALVIYA D, SINGH UB, SHANKAR R, TRIPATHY M, SINGH HV. Biocomputational assessment of natural compounds as

- a potent inhibitor to quorum sensors in *Ralstonia solanacearum*[J]. *Molecules*: Basel, Switzerland, 2022, 27(9): 3034.
- [15] CHATTOPADHYAY P, BANERJEE G, HANDIQUE PJ. Use of an abscisic acid-producing *Bradyrhizobium japonicum* isolate as biocontrol agent against bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum*[J]. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2022, 129(4): 869-879.
- [16] HIKICHI Y, VALLS M, GENIN S. Editorial: *Ralstonia solanacearum*-plant interactions: plant defense responses, virulence mechanisms and signaling pathways[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 890877.
- [17] KUNKEL BN, HARPER CP. The roles of auxin during interactions between bacterial plant pathogens and their hosts[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(2): 245-254.
- [18] CORRAL J, SEBASTIÀ P, COLL NS, BARBÉ J, ARANDA J, VALLS M. Twitching and swimming motility play a role in *Ralstonia solanacearum* pathogenicity[J]. *mSphere*, 2020, 5(2): e00740-e00719.
- [19] WANG BS, HE TJ, ZHENG XA, SONG BT, CHEN HL. Proteomic analysis of potato responding to the invasion of *Ralstonia solanacearum* UW551 and its type III secretion system mutant[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 2021, 34(4): 337-350.
- [20] LEI N, CHEN L, KIBA A, HIKICHI Y, ZHANG Y, OHNISHI K. Super-multiple deletion analysis of type III effectors in *Ralstonia solanacearum* OE1-1 for full virulence toward host plants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1683.
- [21] ASOLKAR T, RAMESH R. The involvement of the type six secretion system (T6SS) in the virulence of *Ralstonia solanacearum* on brinjal[J]. *3 Biotech*, 2020, 10(7): 324.
- [22] BALTENNECK J, REVERCHON S, HOMMAIS F. *Quorum sensing* regulation in phytopathogenic bacteria[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 239.
- [23] ZHAO CZ, WANG HJ, LU Y, HU JX, QU L, LI ZQ, WANG DD, HE YZ, VALLS M, COLL NS, CHEN Q, LU HB. Deep sequencing reveals early reprogramming of *Arabidopsis* root transcriptomes upon *Ralstonia solanacearum* infection[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 2019, 32(7): 813-827.
- [24] 周德健. 番茄青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)致病相关基因 *epsC* 的克隆及功能分析[D]. 广州: 华南农业大学硕士学位论文, 2019.
- ZHOU CJ. Cloning and functional analysis of the pathogenic-related gene *epsC* of *Ralstonia solanacearum*[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [25] GERLIN L, ESCOURROU A, CASSAN C, MAVIANE MACIA F, PEETERS N, GENIN S, BAROUKH C. Unravelling physiological signatures of tomato bacterial wilt and xylem metabolites exploited by *Ralstonia solanacearum*[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(10): 5962-5978.
- [26] NAKAMURA S, MINAMINO T. Flagella-driven motility of bacteria[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(7): 279.
- [27] CHANG YJ, LIU J. Architecture and assembly of periplasmic flagellum[J]. *Microbiology Spectrum*, 2019, 7(4): 10.1128/microbiolspec.PSIB-10.1128/microbiolspec.0030-2019.
- [28] HIDA A, TAJIMA T, KATO J. Two citrate chemoreceptors involved in chemotaxis to citrate and/or citrate-metal complexes in *Ralstonia pseudosolanacearum*[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2019, 127(2): 169-175.
- [29] YAO J, ALLEN C. Chemotaxis is required for virulence and competitive fitness of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(10): 3697-3708.
- [30] TRAN TM, MACINTYRE A, HAWES M, ALLEN C. Escaping underground nets: extracellular DNases degrade plant extracellular traps and contribute to virulence of the plant pathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum*[J]. *PLoS Pathogens*, 2016, 12(6): e1005686.
- [31] TANS-KERSTEN J, BROWN D, ALLEN C. Swimming motility, a virulence trait of *Ralstonia solanacearum*, is regulated by FlhDC and the plant host environment[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 2004, 17(6): 686-695.
- [32] MENG FH, YAO J, ALLEN C. A MotN mutant of *Ralstonia solanacearum* is hypermotile and has reduced virulence[J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(10): 2477-2486.
- [33] CHEN M, ZHANG WQ, HAN LL, RU XJ, CAO YZ, HIKICHI Y, OHNISHI K, PAN GH, ZHANG Y. A CysB regulator positively regulates cysteine synthesis, expression of type III secretion system genes, and pathogenicity in *Ralstonia solanacearum*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2022, 23(5): 679-692.

- [34] ZHANG LQ, XU JS, XU J, ZHANG H, HE LY, Feng J. TssB is essential for virulence and required for type VI secretion system in *Ralstonia solanacearum*[J]. Microbial Pathogenesis, 2014, 74: 1-7.
- [35] ZHANG LQ, XU JS, XU J, CHEN KY, HE LY, FENG J. TssM is essential for virulence and required for type VI secretion in *Ralstonia solanacearum*[J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 2012, 119(4): 125-134.
- [36] WANG GP, KONG J, CUI DD, ZHAO HB, ZHAO PY, FENG SJ, ZHAO YH, WANG WY. Comparative proteomic analysis of two *Ralstonia solanacearum* isolates differing in aggressiveness[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(8): 2444.
- [37] 陈小强, 陈德局, 朱育菁, 陈燕萍, 张海峰, 刘波. 青枯雷尔氏菌胞外多糖合成缺失突变株构建及其生物学特性[J]. 微生物学报, 2018, 58(5): 926-938.
- CHEN XQ, CHEN DJ, ZHU YJ, CHEN YP, ZHANG HF, LIU B. Construction and characterization of extracellular polysaccharide deletion mutant of *Ralstonia solanacearum*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 58(5): 926-938 (in Chinese).
- [38] ZHANG Y, ZHANG WQ, HAN LL, LI J, SHI XJ, HIKICHI Y, OHNISHI K. Involvement of a PadR regulator PrhP on virulence of *Ralstonia solanacearum* by controlling detoxification of phenolic acids and type III secretion system[J]. Molecular Plant Pathology, 2019, 20(11): 1477-1490.
- [39] QI LJ, CHRISTOPHER GF. Role of flagella, type IV pili, biosurfactants, and extracellular polymeric substance polysaccharides on the formation of pellicles by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids, 2019, 35(15): 5294-5304.
- [40] LUKASZCZYK M, PRADHAN B, REMAUT H. The biosynthesis and structures of bacterial pili[J]. Sub-Cellular Biochemistry, 2019, 92: 369-413.
- [41] LIGTHART K, BELZER C, de VOS WM, TYTGAT HLP. Bridging bacteria and the gut: functional aspects of type IV pili[J]. Trends in Microbiology, 2020, 28(5): 340-348.
- [42] KANG YW, LIU HL, GENIN S, SCHELL MA, DENNY TP. *Ralstonia solanacearum* requires type 4 pili to adhere to multiple surfaces and for natural transformation and virulence[J]. Molecular Microbiology, 2002, 46(2): 427-437.
- [43] LOWE-POWER TM, KHOKHANI D, ALLEN C. How *Ralstonia solanacearum* exploits and thrives in the flowing plant xylem environment[J]. Trends in Microbiology, 2018, 26(11): 929-942.
- [44] ZHANG Y, HAN LL, ZHANG LC, XU CZ, SHI XJ, HIKICHI Y, OHNISHI K. Expression of *Ralstonia solanacearum* type III secretion system is dependent on a novel type 4 pili (T4P) assembly protein (TapV) but is T4P independent[J]. Molecular Plant Pathology, 2020, 21(6): 777-793.
- [45] GENIN S, DENNY TP. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex[J]. Annual Review of Phytopathology, 2012, 50: 67-89.
- [46] MURATA Y, TAMURA N, NAKAHO K, MUKAIIHARA T. Mutations in the *lrpE* gene of *Ralstonia solanacearum* affects Hrp pili production and virulence[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2006, 19(8): 884-895.
- [47] SCHELL MA. Control of virulence and pathogenicity genes of *Ralstonia solanacearum* by an elaborate sensory network[J]. Annual Review of Phytopathology, 2000, 38: 263-292.
- [48] BANERJEE G, QUAN FS, MONDAL AK, SUR S, BANERJEE P, CHATTOPADHYAY P. Interrelation between stress management and secretion systems of *Ralstonia solanacearum*: an in silico assessment[J]. Pathogens: Basel, Switzerland, 2022, 11(7): 730.
- [49] GOPALAN-NAIR R, JARDINAUD MF, LEGRAND L, LANDRY D, BARLET X, LOPEZ-ROQUES C, VANDECASTEELE C, BOUCHEZ O, GENIN S, GUIDOT A. Convergent rewiring of the virulence regulatory network promotes adaptation of *Ralstonia solanacearum* on resistant tomato[J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(5): 1792-1808.
- [50] CRAIG L, FOREST KT, MAIER B. Type IV pili: dynamics, biophysics and functional consequences[J]. Nature Reviews Microbiology, 2019, 17(7): 429-440.
- [51] MCCALLUM M, BURROWS LL, HOWELL PL. The dynamic structures of the type IV pilus[J]. Microbiology Spectrum, 2019. DOI: 10.1128/microbiolspec.PSIB-0006-2018.
- [52] LIU HL, ZHANG SP, SCHELL MA, DENNY TP. Pyramiding unmarked deletions in *Ralstonia solanacearum* shows that secreted proteins in addition to plant cell-wall-degrading enzymes contribute to virulence[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2005, 18(12): 1296-1305.
- [53] PERRIER A, BARLET X, PEYRAUD R, RENGEL D, GUIDOT A, GENIN S. Comparative transcriptomic studies identify specific expression patterns of virulence factors under the control of the master

- regulator PhcA in the *Ralstonia solanacearum* species complex[J]. Microbial Pathogenesis, 2018, 116: 273-278.
- [54] UJITA Y, SAKATA M, YOSHIHARA A, HIKICHI Y, KAI KJ. Signal production and response specificity in the *phc* quorum sensing systems of *Ralstonia solanacearum* species complex[J]. ACS Chemical Biology, 2019, 14(10): 2243-2251.
- [55] KUBORI T, MATSUSHIMA Y, NAKAMURA D, URALIL J, LARA-TEJERO M, SUKHAN A, GALÁN JE, AIZAWA SI. Supramolecular structure of the *Salmonella typhimurium* type III protein secretion system[J]. Science, 1998, 280(5363): 602-605.
- [56] LONJON F, RENGEL D, ROUX F, HENRY C, TURNER M, RU AL, RAZAVI N, SABBAGH CRR, GENIN S, VAILLEAU F. HpaP sequesters HrpJ, an essential component of *Ralstonia solanacearum* virulence that triggers necrosis in *Arabidopsis*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2020, 33(2): 200-211.
- [57] PEETERS N, CARRÈRE S, ANISIMOVA M, PLENER L, CAZALÉ AC, GENIN S. Répertoire, unified nomenclature and evolution of the type III effector gene set in the *Ralstonia solanacearum* species complex[J]. BMC Genomics, 2013, 14(1): 859.
- [58] CONG S, LI JZ, XIONG ZZ, WEI HL. Diverse interactions of five core type III effectors from *Ralstonia solanacearum* with plants[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2022.
- [59] SABBAGH CRR, CARRERE S, LONJON F, VAILLEAU F, MACHO AP, GENIN S, PEETERS N. Pangenomic type III effector database of the plant pathogenic *Ralstonia* spp.[J]. PeerJ, 2019, 7: e7346.
- [60] ASOLKAR T, RAMESH R. Development of T3SS mutants (*hrpB*⁻ and *hrcV*⁻) of *Ralstonia solanacearum*, evaluation of virulence attenuation in brinjal and tomato—a pre-requisite to validate T3Es of *R. solanacearum*[J]. Indian Journal of Microbiology, 2018, 58(3): 372-380.
- [61] TRUCHON AN, HENDRICH CG, BIGOTT AF, DALSING BL, ALLEN C. NorA, HmpX, and NorB cooperate to reduce NO toxicity during denitrification and plant pathogenesis in *Ralstonia solanacearum*[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(2): e0026422.
- [62] WANG ZB, ZHANG YZ, BO GD, ZHANG YP, CHEN Y, SHEN MC, ZHANG P, LI GT, ZHOU J, LI ZF, YANG JM. *Ralstonia solanacearum* infection disturbed the microbiome structure throughout the whole tobacco crop niche as well as the nitrogen metabolism in soil[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2022, 10: 903555.
- [63] YANG WC, LIN YM, CHENG YS, CHENG CP. *Ralstonia solanacearum* RSc0411 (lptC) is a determinant for full virulence and has a strain-specific novel function in the T3SS activity[J]. Microbiology: Reading, England, 2013, 159(Pt 6): 1136-1148.
- [64] DEMIRJIAN C, RAZAVI N, DESAINT H, LONJON F, GENIN S, ROUX F, BERTHOMÉ R, VAILLEAU F. Study of natural diversity in response to a key pathogenicity regulator of *Ralstonia solanacearum* reveals new susceptibility genes in *Arabidopsis thaliana*[J]. Molecular Plant Pathology, 2022, 23(3): 321-338.
- [65] ZHANG WQ, LI J, TANG Y, CHEN K, SHI XJ, OHNISHI K, ZHANG Y. Involvement of NpdA, a putative 2-nitropropane dioxygenase, in the T3SS expression and full virulence in *Ralstonia solanacearum* OE1-1[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1990.
- [66] ZHANG WQ, LI J, SHI XJ, HIKICHI Y, ZHANG Y, OHNISHI K. Functional characterization of two putative DAHP synthases of AroG1 and AroG2 and their links with type III secretion system in *Ralstonia solanacearum*[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 183.
- [67] PEETERS N, GUIDOT A, VAILLEAU F, VALLS M. *Ralstonia solanacearum*, a widespread bacterial plant pathogen in the post-genomic era[J]. Molecular Plant Pathology, 2013, 14(7): 651-662.
- [68] HAYASHI K, KAI KJ, MORI YK, ISHIKAWA S, UJITA Y, OHNISHI K, KIBA A, HIKICHI Y. Contribution of a lectin, LecM, to the quorum sensing signalling pathway of *Ralstonia solanacearum* strain OE1-1[J]. Molecular Plant Pathology, 2019, 20(3): 334-345.
- [69] LI JM, HAN LL, CHEN N, ZHU C, GAO YW, SHI XJ, XU CZ, HIKICHI Y, ZHANG Y, OHNISHI K. Functional characterization of RsRsgA for ribosome biosynthesis and expression of the type III secretion system in *Ralstonia solanacearum*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2020, 33(7): 972-981.
- [70] ZHANG Y, LUO F, WU DS, HIKICHI Y, KIBA A, IGARASHI Y, DING W, OHNISHI K. PrhN, a putative marR family transcriptional regulator, is involved in positive regulation of type III secretion system and full

- virulence of *Ralstonia solanacearum*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 357.
- [71] ZHANG Y, LI JM, ZHANG WQ, SHI HL, LUO F, HIKICHI Y, SHI XJ, OHNISHI K. A putative LysR-type transcriptional regulator PrhO positively regulates the type III secretion system and contributes to the virulence of *Ralstonia solanacearum*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2018, 19(8): 1808-1819.
- [72] CHEN M, CHEN N, WANG JW, ZHOU YJ, HAN LL, SHI XJ, HIKICHI Y, OHNISHI K, LI J, ZHANG Y. Involvement of a FAD-linked oxidase RSc0454 for expression of the type III secretion system and pathogenicity in *Ralstonia solanacearum*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 2021, 34(11): 1228-1235.
- [73] 李牧原, 徐鹏霞, 张洵琪, 张勇. 青枯菌 Rsc1285 参与Ⅲ型分泌系统及致病力的调控[J]. *微生物学报*, 2015, 55(8): 1010-1017.
- LI MY, XU PX, ZHANG WQ, ZHANG Y. Regulation of rsc1285 gene in type III secretion system in *Ralstonia solanacearum*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(8): 1010-1017 (in Chinese).
- [74] MORGADO S, VICENTE AC. Diversity and distribution of type VI secretion system gene clusters in bacterial plasmids[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 8249.
- [75] CASSAN FD, CONIGLIO A, AMAVIZCA E, MARONICHE G, CASCALES E, BASHAN Y, de BASHAN LE. The *Azospirillum brasilense* type VI secretion system promotes cell aggregation, biocontrol protection against phytopathogens and attachment to the microalgae *Chlorella sorokiniana*[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(10): 6257-6274.
- [76] LI CF, ZHU LF, WANG DD, WEI ZY, HAO XW, WANG Z, LI TF, ZHANG L, LU ZQ, LONG MX, WANG Y, WEI GH, SHEN XH. T6SS secretes an LPS-binding effector to recruit OMVs for exploitative competition and horizontal gene transfer[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(2): 500-510.
- [77] LE NH, PINEDO V, LOPEZ J, CAVA F, FELDMAN MF. Killing of Gram-negative and Gram-positive bacteria by a bifunctional cell wall-targeting T6SS effector[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(40): e2106555118.
- [78] 张丽勃. VI型分泌系统在植物青枯菌致病和蛋白分泌中的作用研究[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2010.
- ZHANG LQ. Function analysis of type VI secretion system in *Ralstonia solanacearum* pathogenicity and secretion protein[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2010 (in Chinese).
- [79] 张丽勃, 许景升, 徐进, 冯洁. 植物青枯菌VI型分泌系统核心基因 vasK 突变株的构建及其致病性的测定[J]. *植物保护*, 2011, 37(4): 33-37.
- ZHANG LQ, XU JS, XU J, FENG J. Construction and pathogenicity tests of the mutated strain of the core gene vasK of type VI secretion system in *Ralstonia solanacearum*[J]. *Plant Protection*, 2011, 37(4): 33-37 (in Chinese).
- [80] XIONG ZQ, KONG LH, LAI PFH, XIA YJ, LIU JC, LI QY, AI LZ. Genomic and phenotypic analyses of exopolysaccharide biosynthesis in *Streptococcus thermophilus* S-3[J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(6): 4925-4934.
- [81] LI SL, YANG L, RAN YA, DING W. A *epsB* mutant of *Ralstonia solanacearum* as novel biocontrol agent of tobacco bacterial wilt via activating salicylic acid signalling[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2022, 119: 101834.
- [82] YOSHIHARA A, SHIMATANI M, SAKATA M, TAKEMURA C, SENUMA W, HIKICHI Y, KAI KJ. Quorum sensing inhibition attenuates the virulence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* species complex[J]. *ACS Chemical Biology*, 2020, 15(11): 3050-3059.
- [83] MORI YK, ISHIKAWA S, OHNISHI H, SHIMATANI M, MORIKAWA Y, HAYASHI K, OHNISHI K, KIBA A, KAI KJ, HIKICHI Y. Involvement of ralfuranones in the quorum sensing signalling pathway and virulence of *Ralstonia solanacearum* strain OE1-1[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2018, 19(2): 454-463.
- [84] MORI YK, HOSOI Y, ISHIKAWA S, HAYASHI K, YU AS, OHNISHI H, SHIMATANI M, INOUE K, IKEDA K, NAKAYASHIKI H, NISHIMURA Y, OHNISHI K, KIBA A, KAI K, HIKICHI Y. Ralfuranones contribute to mushroom-type biofilm formation by *Ralstonia solanacearum* strain OE1-1[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2018, 19(4): 975-985.
- [85] SENUMA W, TAKEMURA C, HAYASHI K, ISHIKAWA S, KIBA A, OHNISHI K, KAI KJ, HIKICHI Y. The putative sensor histidine kinase PhcK is required for the full expression of phcA encoding the global transcriptional regulator to drive the quorum-sensing circuit of *Ralstonia solanacearum*

- strain OE1-1[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2020, 21(12): 1591-1605.
- [86] WU J, KONG HG, JUNG EJ, CHOI SY, LEE HJ, TAO WX, CHUNG E, LEE SW. Loss of glutamate dehydrogenase in *Ralstonia solanacearum* alters dehydrogenase activity, extracellular polysaccharide production and bacterial virulence[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2015, 90: 57-64.
- [87] DERYABIN D, GALADZHIEVA A, KOSYAN D, DUSKAEV G. Plant-derived inhibitors of AHL-mediated quorum sensing in bacteria: modes of action[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(22): 5588.
- [88] FLAVIER AB, GANOVA-RAEVA LM, SCHELL MA, DENNY TP. Hierarchical autoinduction in *Ralstonia solanacearum*: control of acyl-homoserine lactone production by a novel autoregulatory system responsive to 3-hydroxypalmitic acid methyl ester[J]. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(22): 7089-7097.
- [89] MENG FH, BABUJEE L, JACOBS JM, ALLEN C. Comparative transcriptome analysis reveals cool virulence factors of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0139090.
- [90] MOLE BM, BALTRUS DA, DANGL JL, GRANT SR. Global virulence regulation networks in phytopathogenic bacteria[J]. *Trends in Microbiology*, 2007, 15(8): 363-371.
- [91] BARNARD AML, SALMOND GPC. *Quorum sensing in Erwinia species*[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 387(2): 415-423.
- [92] QUIÑONES B, PUJOL CJ, LINDOW SE. Regulation of AHL production and its contribution to epiphytic fitness in *Pseudomonas syringae*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 2004, 17(5): 521-531.
- [93] QUIÑONES B, DULLA G, LINDOW SE. *Quorum sensing* regulates exopolysaccharide production, motility, and virulence in *Pseudomonas syringae*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 2005, 18(7): 682-693.
- [94] DU HS, YANG JJ, CHEN B, ZHANG XF, XU XL, WEN CL, GENG SS. Dual RNA-seq reveals the global transcriptome dynamics of *Ralstonia solanacearum* and pepper (*Capsicum annuum*) hypocotyls during bacterial wilt pathogenesis[J]. *Phytopathology*, 2022, 112(3): 630-642.
- [95] KOU XH, ZHAO XY, WU BD, WANG C, WU CE, YANG S, ZHOU JQ, XUE ZH. Auxin response factors are ubiquitous in plant growth and development, and involved in crosstalk between plant hormones: a review[J]. *Applied Sciences*, 2022, 12(3): 1360.
- [96] AERTS N, PEREIRA MENDES M, van WEES SCM. Multiple levels of crosstalk in hormone networks regulating plant defense[J]. *The Plant Journal*, 2021, 105(2): 489-504.
- [97] DAI FW, WANG ZJ, LI ZY, LUO GQ, WANG Y, TANG CM. Transcriptomic and proteomic analyses of mulberry (*Morus atropurpurea*) fruit response to *Ciboria carunculoides*[J]. *Journal of Proteomics*, 2019, 193: 142-153.
- [98] QI P, HUANG M, HU X, ZHANG Y, WANG Y, LI P, CHEN S, ZHANG D, CAO S, ZHU W, XIE J, CHENG J, FU Y, JIANG D, YU X, LI B. A Dynamic expression of *Ralstonia solanacearum* virulence factors and metabolism-controlling genes during plant infection[J]. *Plant Cell*, 2022, 4(5): 1666-1683.
- [99] de PEDRO-JOVÉ R, PUIGVERT M, SEBASTIÀ P, MACHO AP, MONTEIRO JS, COLL NS, SETÚBAL JC, VALLS M. Dynamic expression of *Ralstonia solanacearum* virulence factors and metabolism-controlling genes during plant infection[J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 170.
- [100] WEI YC, ZHANG Y, MENG JX, WANG YJ, ZHONG CL, MA HB. Transcriptome and metabolome profiling in naturally infested *Casuarina equisetifolia* clones by *Ralstonia solanacearum*[J]. *Genomics*, 2021, 113(4): 1906-1918.
- [101] YANG S, CAI WW, SHEN L, WU RJ, CAO JS, TANG WQ, LU QL, HUANG Y, GUAN DY, HE SL. Solanaceous plants switch to cytokinin-mediated immunity against *Ralstonia solanacearum* under high temperature and high humidity[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2022, 45(2): 459-478.
- [102] NOVÁK J, PAVLŮ J, NOVÁK O, NOŽKOVÁ-HLAVÁČKOVÁ V, ŠPUNDOVÁ M, HLAVINKA J, KOUKALOVÁ Š, SKALÁK J, ČERNÝ M, BRZOBOHATÝ B. High cytokinin levels induce a hypersensitive-like response in tobacco[J]. *Annals of Botany*, 2013, 112(1): 41-55.
- [103] 王金生. 植物病原细菌学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 484.
- WANG JS. *Plant Pathogenic Bacteriology*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 484 (in Chinese).
- [104] PERRIER A, PEYRAUD R, RENGEL D, BARLET X, LUCASSON E, GOUZY J, PEETERS N, GENIN S, GUIDOT A. Enhanced in planta fitness through adaptive mutations in EfpR, a dual regulator of virulence and metabolic functions in the plant

- pathogen *Ralstonia solanacearum*[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(12): e1006044.
- [105] LI JG, LIU HX, CAO J, CHEN LF, GU C, ALLEN C, GUO JH. PopW of *Ralstonia solanacearum*, a new two-domain harpin targeting the plant cell wall[J]. Molecular Plant Pathology, 2010, 11(3): 371-381.
- [106] 艾连中, 范艺周, 熊智强. 第二信使分子调控细菌胞外多糖生物合成研究进展[J]. 中国食品学报, 2021, 21(4): 1-8.
- AI LZ, FAN YZ, XIONG ZQ. Advances in bacterial exopolysaccharide biosynthesis regulated by the second messenger molecule[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(4): 1-8 (in Chinese).
- [107] 葛新成. 铜绿假单胞菌VI型蛋白分泌系统对番茄青枯病原菌拮抗机制的研究[D]. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2019.
- GE XC. The antagonistic mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion system against *Ralstonia solanacearum*[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [108] ZHOU YN, YANG HY, LIU JP. Complete genome sequence of *Enterobacter roggkampii* strain KQ-01, isolated from bacterial wilt-resistant mulberry cultivar YS283[J]. Plant Disease, 2021, 105(3): 688-690.
- [109] 王继承, 孙勋勋, 罗龙辉, 刘吉平. 4 种桑树土传病原生防细菌的分离与鉴定[J]. 蚕业科学, 2020, 46(1): 31-36.
- WANG JC, SUN XX, LUO LH, LIU JP. Isolation and identification of biocontrol bacteria against 4 soil-borne pathogens of mulberry[J]. Science of Sericulture, 2020, 46(1): 31-36 (in Chinese).
- [110] 杨宏宇, 周轶楠, 孙勋勋, 王亚洁, 王狗旦, 陈杰湖, 易辉玉, 刘伟强, 黄志君, 田铃, 刘吉平. 桑源阴沟肠杆菌 LAMP 检测方法的建立和应用[J]. 蚕业科学, 2019, 45(3): 321-330.
- YANG HY, ZHOU YN, SUN XX, WANG YJ, WANG GD, CHEN JH, YI HY, LIU WQ, HUANG ZJ, TIAN L, LIU JP. Establishment and application of loop-mediated isothermal amplification method for detecting *Enterobacter cloacae* complex[J]. Science of Sericulture, 2019, 45(3): 321-330 (in Chinese).
- [111] 王继承. 桑枯萎病中菠萝泛菌的分离鉴定及防治研究[D]. 广州: 华南农业大学硕士学位论文, 2019.
- WANG JC. Isolation, identification and control of *Pantoea* in wilt of mulberry[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [112] 罗龙辉, 王继承, 刘吉平. 桑细菌性枯萎病病原菌的分离鉴定与全基因组序列分析[J]. 植物保护, 2022, 48(1): 44-51, 89.
- LUO LH, WANG JC, LIU JP. Isolation, identification and whole-genome sequence analysis of the pathogen causing mulberry bacterial wilt disease[J]. Plant Protection, 2022, 48(1): 44-51, 89 (in Chinese).
- [113] LUO LH, HUANG YX, LIU JP. Genome sequence resources of *Klebsiella michiganensis* AKKL-001, which causes bacterial blight of mulberry[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2022, 35(4): 349-351.
- [114] DJAMI-TCHATCHOU AT, LI ZA, STODGHILL P, FILIATRAULT MJ, KUNKEL BN. Identification of Indole-3-Acetic Acid-Regulated Genes in *Pseudomonas syringae* pv. tomato Strain DC3000[J]. J Bacteriol, 2022, 204(1): e0038021.
- [115] ALONSO-DÍAZ A, SATBHAI SB, de PEDRO-JOVÉ R, BERRY HM, GÖSCHL C, ARGUESO CT, NOVAK O, BUSCH W, VALLS M, COLL NS. A genome-wide association study reveals cytokinin as a major component in the root defense responses against *Ralstonia solanacearum*[J]. Journal of Experimental Botany, 2021, 72(7): 2727-2740.