

马铃薯晚疫病菌分子遗传及与寄主互作研究

郭 军, 屈冬玉*, 王晓武, 金黎平, 谢开云

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要 近年来马铃薯晚疫病的重新暴发再次引起世界各国极大关注, 特别对马铃薯晚疫病菌的分子遗传学的研究, 包括病菌基因组遗传、转录和物理图谱的构建, 病菌致病的分子机制以及马铃薯-马铃薯晚疫病菌互作分子机制等。本文就近几十年来对马铃薯晚疫病菌在生物学和病理学、分子遗传学等研究方面作简要综述, 并对其研究趋势进行了展望。

关键词 植物病理学; 马铃薯晚疫病菌; 分类学地位; 基因组分析; 分子遗传; 互作关系

中图分类号 S 435.32

Advances in molecular genetics of the pathogen of potato late blight *Phytophthora infestans*

GUO Jun, QU Dong-yu, WANG Xiao-wu, JIN Li-ping, XIE Kai-yun

(Institute of Vegetables and Flowers, CAAS, Beijing 100081, China)

Abstract The oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans* is the causal agent of potato late blight, one of the most devastating diseases of potato worldwide. Resurgence of late blight has recently increased interest in the species worldwide. A dramatic intensification in molecular genetic studies on *P. infestans* has been seen in recent years, including the resources for genetic, transcriptional and physical mapping of its genome and molecular mechanism of pathogenesis and potato-*P. infestans* interaction. This review provides an overview of the biology, genetics and pathology of *P. infestans*, with a particular emphasis on molecular genetics and also describes prospects for future advances.

Key words phytopathology; *Phytophthora infestans*; taxonomic placement; genome analysis; molecular genetics; interaction relationship

由致病卵菌[*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary]引起的马铃薯晚疫病是马铃薯上一种毁灭性病害。Waterhouse 曾对 *P. infestans* 分类史进行了详细记载^[1]。最初 Montagne 将 *P. infestans* 划分在 *Botrytis* 属内, 后来 de Bary 将其划为 *Phytophthora* 属内的一个种^[2]。尽管人们很早就认为 *P. infestans* 是一种重要病原菌, 但并没有把它象子囊菌和担子菌那样作为主要的病菌来进行研究; 同时又由于许多学者认为卵菌与真菌在分类上没有差异^[3,4]。所以, 与其它真菌相比, 卵菌在经典遗传学和分子遗传学方面的研究非常缓慢。然而马铃薯作为全世界最大的非谷类作物, 特别是过去几十年来由于马铃薯晚疫病造成的损失愈来愈严重, 因此马铃薯晚疫病菌的研究再度引起世界各国科学家的极大关注^[5], 对马铃薯晚

疫病菌的生物学、致病机制和分子遗传学进行了深入的研究。

1 分类地位

P. infestans 属于活体营养型(biotrophy)致病卵菌, 寄主范围狭窄, 侵染马铃薯、番茄等 50 种茄科植物。*P. infestans* 现被划分在 Chromista 界, Oomycota 门, Peronosporales 目, Pythiaceae 科, *Phytophthora* 属^[6,7]。虽然卵菌有很多类似真菌的特性, 例如菌丝生长, 但是现代研究并不支持这一观点。通过对卵菌的新陈代谢^[8,9], 细胞壁组成成份^[10], rRNA 序列的研究表明^[3,4], 卵菌与硅藻、褐藻和金藻有较近的亲缘关系, 而与真菌的亲缘关系较远。这表明卵菌具有与真菌截然不同的遗传和生化互作机制。

2 基因组结构和变异

1987年 Tooley 和 Thierrien 通过福尔根反应得到 *P. infestans* 的基因组大小约为 2.5×10^8 bp, 比一般真菌基因组大^[11]。由于基因组大, 所以可以通过光学显微镜观察到染色体的减数分裂, 有助于细胞学的早期研究。另一方面, 因基因组太大, 难以通过脉冲电泳进行精确分离, 导致很难检测到 B-DNA 或小片段染色体^[12]。

研究表明 *P. infestans* 可能具有一个可变和可塑的基因组, 可以用来解释已报道的研究, 如在一定的单一培养条件下, *P. infestans* 的生长率, 菌落生态学, 无毒性以及致病侵染。重要染色体的异质或者许多隐性缺陷性位点可能在 *P. infestans* 存在, 可以用来解释不同杂交的卵孢子萌发率从 0~100% 的原因, 以及致病 *P. infestans* 的亲本杂交会产生非致病后代^[13, 14]。1980 年以前, *P. infestans* 除在墨西哥存在有性生殖外, 绝大部分其它国家和地区的 *P. infestans* 以无性生殖生存, 因此 *P. infestans* 缺陷型位点的积累或染色体异常的存在并不奇怪。同其它很少具有有性循环的二倍体生物一样, 这是由于存在很少的外界选择力以便保护基因组结构或者去除隐性缺陷位点。这种现象并不只是存在于 *P. infestans* 上, 同时也普遍存在于二倍体生物^[15]和单倍体真菌中^[16]。

利用 DNA 标记构建了 *P. infestans* 的遗传图谱, 可以帮助解释其基因组变异和进行图位克隆^[17]。除了一个含有 13 个 AFLP 标记(都来自于 A1 型亲本)和交配型位点的区域外, *P. infestans* 基因组所有的区域都遵循正常的孟德尔分离规律^[18~20]。

早期的细胞学研究表明 *P. infestans* 某些生理小种的染色体数目为 9~12 条, 其它生理小种的则为这些生理小种的两倍。染色体计数和细胞分光光度分析以及遗传研究确定了 *P. infestans* 正常情况下为二倍体, C 值大约为 9~10, 当然也存在三倍体, 四倍体以及非整倍体^[11]。不同倍性的亲本杂交不是产生有性后代丰产度的主要影响因素, 即使这种杂交也会产生染色体内含物变化的杂交后代。有研究表明高倍性 *P. infestans* 生理小种更易于适应环境, 倍性变异利于高适应性生理小种的进化^[21]。在倍性水平上的变异易导致后代分离比例的无规律性和遗传研究的复杂性, 因此目前的实验尽量应用已知或明确的二倍体。

3 致病性研究

随着遗传技术的发展, 对病菌侵染过程的细胞学和致病因素的生理生化研究已转向导致致病和具有寄主特异性的基因的研究。

目前有几个介于病菌致病过程的基因已被分离得到, 但对它们的功能知之甚少。Pieterse 等利用差异表达克隆方法鉴定了在病菌侵染过程中优先表达的基因, 其中几个基因编码已知蛋白如多态泛素和钙调蛋白, 但对其它基因编码的蛋白尚需确定, 编码钙调蛋白的这些基因包括合成富含氨基乙酸的 *ip-iB* 基因家族以及可能编码小的分泌蛋白的 *ipiO* 基因。同时利用差异表达鉴定得到了病菌侵染前表达的基因, 其中某个基因在游动孢子萌发时表达, 这个基因可能编码含有多个八肽基序的分泌蛋白^[22]。Kamoun 等对编码小分子量 (10kDa) 胞外蛋白的 *elicitin* 基因进行了分析^[23], 研究表明这种蛋白首先在菌丝中表达, 但同时又在寄主上寄生的初始和活体营养阶段具有下调作用。目前这种形式表达的机制不很清楚, 可能与诱导寄主结构或组织坏死有关。大多数 *Phytophthora* 种合成的蛋白 *elicitin* 诱导许多寄主植物的组织坏死但却不能诱导马铃薯, 所以这种蛋白在寄主-病菌互作的作用是有争议的。随着分子生物学和分子遗传学技术的发展, 这种疑问将会被解决。

马铃薯晚疫病病菌对苯氨基类抗真菌剂的抗性特点将利于创新抗真菌剂, 分离此抗性基因以作为卵菌转化的选择性标记。苯氨基类化合物是首次应用于抗卵菌的广谱性药剂, 由于经常使用会导致病菌抗性的增强^[24]。其它的抗真菌化合物, 例如苯丙咪唑和脱甲基固醇抑制剂, 对卵菌的杀菌效果并不理想。生化研究表明, 苯氨基类抗真菌剂杀菌的原因在于可能抑制了病菌的 rRNA 合成。遗传研究表明, 可能一个或多个半显性位点决定寄主的抗性, 同时连锁标记的获得将有利于通过染色体步移克隆寄主抗性基因^[25]。

4 *P. infestans*-马铃薯互作的分子基础研究

4.1 *P. infestans*-马铃薯基因与基因互作研究

不论是马铃薯的野生种或栽培种, 其对 *P. infestans* 的抗性有两种方式: 垂直抗性和水平抗性。垂直抗性可以通过寄主的显性抗性基因产物与病菌中互补的无毒基因的产物互作这种形式表现出来, 这种形式称之为“基因对基因”互作^[26]。互作的结

果是植物表现高度敏感反应(hypersensitive response, HR),植物细胞局部程序化死亡的一种,从而阻止病菌的进一步侵染。目前对寄主水平抗性的机制了解甚少,研究表明HR是寄主对卵菌所有抗性形式中的主要形式。

至少有11个抗性基因(命名为R1~R11)已经从*Solanum demissum*整合到马铃薯栽培种^[27],并且许多抗性基因已经定位在染色体上,其中包括R1和R3^[28,29],R2^[30],R6和R7^[31]。目前只有R1被克隆得到^[32]。对*P. infestans*无毒性的遗传基础有过很多报道。这些研究表明大多数基因的互作是由显性无毒基因与互补的抗性基因相互作用。然而,不同*P. infestans*生理小种无毒基因表现不同,如Avr2和Avr4在某些病菌小种表现显性,而在另一些小种表现隐性。出现这种现象的原因可能是由于一个自由位点决定一个无毒基因,或者是由于上位显性作用。Al-Kherb^[14]等对Avr10的研究表明了上位显性作用的存在。

为了便于从*P. infestans*中图位克隆无毒基因,van der Lee等^[17]构建了第一张*P. infestans*连锁图谱,含有183个AFLP标记和7个RFLP标记。Avr4定位在连锁群A2-a,Avr2定位在连锁群VI,Avr1在连锁群IV,Avr3、Avr10、Avr11在连锁群VIII,并且紧密连锁。无毒基因位点的紧密连锁,不仅在真菌中存在,同时在另一个卵菌*P. sojae*也有发现^[33]。

一个含有大的插入片段和几倍基因组大小的DNA文库对图位克隆基因是非常必要的。近来,Whisson等利用*P. infestans*含有6个无毒基因的F1后代个体构建了一个BAC库^[34],这个BAC库含有相当于10个*P. infestans*基因组大小的克隆,平均插入片段大小为98kb。通过三维沟池策略利用AFLP标记筛选BAC库,构建了一个含有11个克隆的跨越Avr11的BAC重叠群。目前他们正在构建跨越所有Avr位点的BAC重叠群,寻找与无毒基因表型相符的无毒基因。

4.2 *P. infestans*-马铃薯互作的转录组学研究

在*P. infestans*-马铃薯互作过程中,如果病菌侵染寄主成功,同时植株表现症状,则称之为亲和性互作;否则寄主与病原物的关系为非亲和性互作。*P. infestans*被寄主植物的感知和*P. infestans*避免或克服寄主植物的抵抗,说明两者之间存在复杂的、动态的交流网络。生化反应路径的感应或者是互作中出现的特异细胞类型,都是由于成千上万的基因上调或

下调的结果。“互作转录组学”的意思是病菌和寄主互作过程中产生的寄主和病菌的转录物的总称^[35]。对*P. infestans*与寄主植物马铃薯互作的分子机制和过程的研究程度将决定转录组学的研究深度。

目前,*P. infestans*和*P. sojae*的表达序列标签(expressed sequence tags ESTs)工作已经开展。每个病菌有2 000~3 000个ESTs保存在(phytophthora genome initiative)PGI数据库(<http://www.ncgr.org/pgi/index.html>)^[36]。PGI是世界各国科学家为研究*P. infestans*和*P. sojae*基因组而创建的。美国农业部也投资进一步测序41 000个*P. sojae* ESTs和14 000个*P. infestans* ESTs。

通过从利用*Phytophthora*侵染植物组织构建的cDNA文库中获得的ESTs其来源于病菌或寄主植物。寄主植物和病菌的ESTs可以通过应用生物信息分析的方法区分开来。Qutob等研究表明,寄主植物和*Phytophthora*的ESTs的GC含量存在明显的不同^[37],根据此结论可以区别大多数的ESTs。他们通过对仅利用大豆或*P. sojae*构建的cDNA文库获得ESTs来测算两者的GC含量,*P. sojae*的GC含量为58%,而大豆的GC含量为46%。同样利用*P. sojae*被侵染后的大豆构建的cDNA文库进行的序列分析研究表明,ESTs的GC含量出现46%和58%两个峰值。从文库中获得的2/3的ESTs的GC含量为58%,表明这些ESTs来自于病菌。关于*P. infestans*和马铃薯,同样病菌和寄主植物存在GC含量的不同。

病菌的许多蛋白在病菌致病过程中有很重要的作用,这些蛋白可能是病菌表面组成成分。Torto等利用已存在的EST信息搜索编码潜在胞外蛋白的*P. infestans*基因^[38]。为此他们建立了P_{EX}FinderV1.0(P_{EX}表示*Phytophthora*胞外蛋白)运算法则以便快速鉴定得到的ESTs编码的分泌或细胞膜相关的蛋白,从而得到具有与病菌生存或毒性相关的候选基因以进行下游功能分析。

在*P. infestans*与寄主马铃薯互作过程中,许多在寄主抗性 or 致病性方面起主要作用的基因具有上调作用。Pieterse等通过差异筛选*P. infestans*基因组cDNA文库分离得到植物诱导的*ipi*基因^[39],在具有上调作用的*P. infestans*序列中,*ipiO*和*ipiB*基因是其中两个具有此功能的基因。van West等研究表明^[40],*ipiO*基因在病菌侵染初期的正在侵入的菌丝中表达。通过差减杂交(subtractive hy-

bridization)技术, Gönkhaldt 等^[41]分离得到似粘液素基因家族,称之为 *car* 基因, *car* 基因在侵染初期的萌发静孢子表达,具有上调作用。

近年来,一种以 PCR 为基础用来分离差异表达基因的方法—抑制差减杂交法(suppression subtractive hybridization SSH),被用来研究马铃薯—*P. infestans* 的互作。这种方法可用于大批量测序工作以及检测微量差异表达转录物。SSH 方法已经被用来分离马铃薯与 *P. infestans* 亲和性互作和非亲和性互作过程中表现上调的马铃薯基因。更多的是,利用 SSH 得到病菌侵染后 15h 和 72h 不同差异表达的 cDNAs,这些 cDNAs 被用作探针筛选 Whisson 等构建的 BAC 库^[34]。每个探针与许多 BACs 杂交,但没有出现与同一个克隆杂交的情况。定量 RT-PCR 研究表明,这些 BACs 含有在侵染初期或晚期特异表达的序列,从而可以推测这些 BACs 是否含有病菌致病的候选基因。

5 展望

自 1840 年爱尔兰因马铃薯晚疫病发生大饥荒以来,对马铃薯晚疫病病菌的生物学、遗传学和病理学的研究已取得了可喜的成就,但怎样更好地利用杀真菌剂、植物遗传工程或其它策略去预防和控制马铃薯晚疫病,仍然需要进一步深入和加强研究。在对 *P. infestans* 遗传学研究方面,对病菌的交配型、致病性、变异以及其它领域的研究也取得了较大的进展。对病菌进行实验室操作的基本技术研究已成为重点,但并不仅限于对病菌的重要基因和遗传网络的鉴定,寄主植物马铃薯对晚疫病病菌的反应机制研究取得的成果将会促进对病菌遗传学的进一步了解和研究。

P. infestans 与寄主马铃薯互作机制的研究始终是一个重要的研究课题。*P. infestans* 许多生物学方面的研究完全是在培养基上进行的,然而,*P. infestans* 自然生长和发育是受代谢物和一些来自植物信号的影响;这些信号究竟是什么以及它们怎样影响病菌的侵染过程,生长,吸器的形成,孢子形成和杂交;这些信号传导途径能不能被用来改造以形成寄主的持久抗性。这些问题将需亟待研究。

由于卵菌在分类学,遗传学以及生物学方面明显不同于真菌,所以通过对子囊菌和担子菌研究得到的结论对研究卵菌没有太大的意义。例如,就鉴定 *P. infestans* 基因而言,依靠传统的突变体途径已

经不行了,只有利用以基因组为基础的或差异克隆策略才是可行的。通过对 *P. infestans* 的研究,可以获得生物学和遗传学新发现,这种发现不仅有其它真菌缺乏的途径如游动孢子形成,而且也有独创的人为类似途径如人工杂交。把 *P. infestans* 当作一种模式病菌来研究,这将更加有利于对许多其它的植物病原菌,动物寄生虫,腐生菌的了解。揭开 *P. infestans* 的分子遗传学的奥秘将为防治马铃薯晚疫病提供新的思路和途径。

参考文献

- [1] Waterhouse G M. Key to the species of *Phytophthora* de bary [C]. Mycological papers. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1963, 92.
- [2] de Bary A. Researches into the nature of the potato fungus *Phytophthora infestans* [A]. JR Agric Soc England 2nd Series [C], 1876, (12): 239–269.
- [3] Förster H, Coffey M D, Elwood H, et al. Sequence analysis of the small subunit ribosomal RNAs of three zoospore fungi and implications for fungal evolution [J]. Mycologia, 1990, (82): 306–312.
- [4] Illingworth C A, Andrews J H, Bibeau C, et al. Phylogenetic placement of *Athelia bombacina*, *Aureobasidium pullulans*, and *Colletotrichum gloeosporioides* inferred from sequence comparisons of small-subunit ribosomal RNAs [J]. Exp Mycol, 1991, (15): 65–75.
- [5] Daly D C. The blight is back [J]. Nat Hist, 1996, (105): 31.
- [6] Barr D J S. The zoospore grouping of plant pathogens, entity or non-entity [A]. Buczaki S. T. Zoospore plant pathogens, a modern Perspectives [C], Academic Press, 1983, 43–83.
- [7] Dick M W. The *Straminipillous* fungi, a new classification for the biflagellate fungi and their uniflagellate relatives with particular reference to *Lagenidiaceae* fungi [C]. C A B Internat Mycol Pap 1995, 168.
- [8] Pfyffer G, Boraschi-Gaia E, Weber B, et al. A further report on the occurrence of acyclic sugar alcohols in fungi [J]. Mycol Res, 1990, (92): 219–222.
- [9] Vogel H J. Distribution of lysine pathways among fungi: evolutionary implications [J]. Am Nat, 1964, (98): 435–446.
- [10] Bartnicki-Garcia S, Wang M C. Biochemical aspects of morphogenesis in *Phytophthora*: its biology, taxonomy, ecology, and pathology [A]. St Paul MN: American Phytopathological Society Press, 1983, 121–138.
- [11] Tooley P W, Therrien C D. Cytophotometric determination of the nuclear DNA content of 23 Mexican and 18 non-Mexican isolates of *Phytophthora infestans* [J]. Exp Mycol, 1987, (11): 19–26.
- [12] Francis D M, Michelmores R W. Two classes of chromosome-sized molecules are present in *Bremia lactucae* [J]. Exp Mycol, 1993, (17): 284–300.
- [13] Tooley P W, Garfinkel D J. Presence of Tyl-copia group retrotransposon sequences in the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*

- [J.]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1996, (9):305–309.
- [14] Al-Kherb S M, Fininsa C, Shattock R C *et al*. The inheritance of virulence of *Phytophthora infestans* to potato[J]. *Plant Pathol*, 1995, (44): 552–562.
- [15] Valentine G H. The chromosome disorders[M]. Lodon, Canada: William Heinmann, 1975.
- [16] Perkins D D. The manifestation of chromosome rearrangements in unordered asci of *Neurospora*[J]. *Genetics*, 1974, (77): 459–489.
- [17] van der Lee, T, de Witte I, Drenth A, *et al*. AFLP linkage map of the oomycete *Phytophthora infestans*[J]. *Fungal Gen Biol*, 1997, (21): 278–291.
- [18] Judelson H S, Spielman L J, Shattock R C. Genetic mapping and non-mendelian segregation of mating type loci in the oomycete, *Phytophthora infestans*[J]. *Genetics*, 1995, (141): 503–512.
- [19] Judelson H S. Chromosomal heteromorphism linked to the mating type locus of oomycete, *Phytophthora infestans*[J]. *Mol Gen Genet*, 1996, (252): 155–161.
- [20] Judelson H S. Physical and genetic variability at the mating type locus of oomycete, *Phytophthora infestans*[J]. *Genetics*, 1996, (144): 1005–1013.
- [21] Sansome E. Polyploidy and induced gametangial formation in *Phytophthora infestans*[J]. *J Gen Microbiol*, 1977, (99): 311–316.
- [22] Pieterse C M J, Derksen A-M C E, Folders J, *et al*. Expression of the *Phytophthora infestans* *ipiB* and *ipiO* genes in planta and in vitro[J]. *Mol Gen Genet*, 1994, (244): 269–277.
- [23] Kamoun S, van West P, de Jong A J, *et al*. A gene encoding a protein elicitor of *Phytophthora infestans* is down-regulated during infection of potato[J]. *Molec Plant-Microbe Interact*, 1997, (10): 13–20.
- [24] Gisi U, Cohen Y. Resistance to phenylamide fungicides: A case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure[J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1995, (34): 549–572.
- [25] Fabritius A L, Sattock R C, Juddelson H S. Genetic analysis of metalaxyl insensitivity loci in *Phytophthora infestans* using linked DNA markers[J]. *Phytopathology*, 1997, (87): 1034–1040.
- [26] Flor H H. Current status of the gene-for-gene concept[J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1971, (9): 275–296.
- [27] Wastie R L. Breeding for resistance[A]. *Advances in plant pathology*, Vol. 7: *Phytophthora infestans*, the cause of late blight of potato [C]. Academic Press London, UK, 1991, 193–223.
- [28] El-Knarbotly A, Leonards-Schippers C, Huigen D J, *et al*. Segregation analysis and RFLP mapping of R1 and R3 alleles conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in progeny of dihaploid potato parents[J]. *Mol Gen Genet*, 1994, (242): 749–754.
- [29] Leonards-Schippers C, Gieffers W, Salamini F, *et al*. The R1 gene conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in potato is located on chromosome V[J]. *Mol Gen Genet*, 1992, (233): 278–283.
- [30] Li X, Eck H J, Rouppe van der Voort, *et al*. Autotetraploids and genetic ampping using common AFLP markers : the R2 allele conferring resistance to *Phytophthora infestans* mapped on potato chromosome IV[J]. *TAG*, 1998, (96): 1121–1128.
- [31] El-Knarbotly A, Palomino Sanchez C, Salamini F, *et al*. R6 and R7 alleles of potato conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* identified genetic loci clustering with the R3 locus on chromosome XI[J]. *Theor Appl Genet*, 1996, (92): 880–884.
- [32] Ballvora A, Ercolano M R, Weib J, *et al*. The R1 gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the Leucine Zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes[J]. *The Plant Journal*, 2002, 30(3):361–371.
- [33] Whisson S C, Drenth A, Maclean D J, *et al*. *Phytophthora sojae* avirulence genes, RAPD, and RFLP markers used to construct a detailed genetic linkage map[J]. *Mol Plant-Microbe Interaction*, 1995, (8): 988–995.
- [34] Whisson S C, van der Lee T, Bryan G J, *et al*. Physical mapping across an avirulence locus of *Phytophthora infestans* using a high representation, large insert artificial chromosome library[J]. *Mol Genet Genomics*, 2001, (266): 289–295.
- [35] Birch P R J, Avora A O, Lyon G D, *et al*. Isolation of potato genes that are induced during an early stage of the hypersensitive response to *Phytophthora infestans*[J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1999, (12): 356–361.
- [36] Waugh M, Hraber P, Weller J, *et al*. The *Phytophthora* genome initiative database: informatics and analysis for distributed pathogenomic research[J]. *Nucl Acids Res*, 2000, (28):87–90.
- [37] Qutob D, Hraber P T, Sobral B W, *et al*. Comparative analysis of expressed sequences in *Phytophthora sojae*[J]. *Plant Physiol*, 2000, (123): 243–254.
- [38] Torto T, Styer A, Kamoun S. EST data mining: novel extracellular proteins from the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*[J]. *Fungal Genet Newsle*, 2001, (48): 111.
- [39] Pieterse C M J, van West P, Verbakel H M, *et al*. Structure and genomic organization of the *ipiB* and *ipiO* genes clusters of *Phytophthora infestans*[J]. *Gene*, 1994, (138): 67–77.
- [40] van West P, de Jong A J, Judelson H S, *et al*. The *ipiO* gene of *Phytophthora infestans* is highly expressed in invading hyphae during infection[J]. *Fungal Genet Biol*, 1998, (23): 126–138.
- [41] Görnwaldt B, Rouhara I, Schmelzer E. Cyst germination proteins of the potato pathogen *Phytophthora infestans* share homology with human mucins[J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2000, (13): 32–42.