

植物病原细菌 *hrp* 基因簇比较基因组分析

陶 晔,刘 彬,司贺龙,赵 斌,邢继红,董金皋

(河北农业大学,真菌毒素与植物分子病理学实验室,河北 保定 071001)

摘要: *hrp* 基因是植物病原细菌中一类重要的致病基因,一般成簇排列。对 14 种已完成全基因组测序的植物病原细菌基因组中的 *hrp* 基因簇进行了大小、G + C 含量、基因组成的 BlastP 比较。发现它们的大小在 18 ~ 24 kb,由 22 ~ 28 个基因组成。欧文氏菌属和假单胞菌属的菌株中 G + C 含量较低,拉尔氏菌属和黄单胞菌属菌株的 G + C 含量较高。而且,各菌属的基因簇都有其独有的 *hrp* 基因,如假单胞菌属是 *hrpK₁*、*hrpV*、*hrpA*; 欧文氏菌属是 *hrpT*、*hrpV*、*hrpA*; 拉尔氏菌属是 *hrpZ*、*hrpX*、*hrpY*、*hrpV*; 黄单胞菌属是 *hrpE*、*hrpD₆*、*hpaA*。其中,基因 *hrpA₁*、*hrpA*、*hrpY* 和 *hrpE* 在假单胞菌属、欧文氏菌属、拉尔氏菌属和黄单胞菌属中均编码Ⅲ型菌毛的基因,可能在寄主和病原物识别中起重要作用。

关键词: 植物病原细菌; *hrp* 基因簇; 生物信息学分析

中图分类号: S435.131; Q78 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2013)02-0027-05

Bioinformatics Analyse the *hrp* Gene Clusters of Phytopathogenic Bacteria

TAO Bu, LIU Bin, SI He-long, ZHAO Bin, XING Ji-hong, DONG Jin-gao

(Agricultural University of Hebei, Mycotoxin and Molecular Plant Pathology Laboratory, Baoding 071001, China)

Abstract: *hrp* gene is one of important pathogenity genes in phytopathogenic bacteria, usually in cluster. The size, G + C contents and BlastP of the constituted genes of 14 completed sequenced phytopathogenic bacterias in this article compare. It find that these size of gene clusters among 18 - 24 kb, made up by 22 - 28 genes. The G + C contents is lower in the *Pseudomonas* and *Erwinia* genus, but higher in the *Xanthomonas* and *Ralstonia* genus. Moreover, every genus has its own unique *hrp* gene cluster, such as in the *Pseudomonas* are *hrpZ₁*, *hrpA₁*, *hrpV* genes. In the *Erwinia* genus are *hrpT*, *hrpV*, *hrpA* genes. In the *Ralstonia* genus are *hrpZ*, *hrpX*, *hrpY*, *hrpV* genes. In the *Xanthomonas* are *hrpE*, *hrpD₆*, *hpaA*. Among these genes, *hrpA₁*, *hrpA*, *hrpY*, *hrpE* respectively belong to *Pseudomonas* spp, *Erwinia* spp, *Ralstonia* spp and *Xanthomonas* spp, encode type Ⅲ pilus, these genes maybe act as important function in pathogens recognize host progress.

Key words: Phytopathogenic bacteria; *hrp* gene cluster; Bioinformatics

植物在其生长发育过程中,经常会受到一些病原细菌的侵袭。病原细菌致病的重要手段之一是通过Ⅲ型蛋白分泌系统分泌的效应蛋白等毒性因子转运至寄主细胞内导致寄主植物发病^[1]。Ⅲ型蛋白分泌系统(Type Ⅲ secretion system)在植物病原细菌中由 *hrp* 基因编码, *hrp* 基因一般成簇存在,是细菌致病的重要决定因子,控制着细菌在寄主植物上的繁殖和引起病害的能力,以及可以在非寄主植物上引发过敏性坏死反应^[2]。早在 1986 年, Lindgren 等^[3]首次在 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 中

克隆到 *hrp* 基因。 *hrp* 基因包括 *hrc* (Hypersensitive response and conserved) 即保守的 *hrp* 基因、*hpa* (*hrp* associated protein) 即 *hrp* 基因辅助蛋白以及一部分非保守的 *hrp* 基因。本研究通过对已经完成全基因组注释的植物病原细菌的全基因组序列进行分析,找到这些细菌的组成编码Ⅲ型蛋白分泌系统的 *hrp* 基因簇,并通过生物信息学的方法进行比较分析,比较这些基因簇的大小、G + C 含量、基因组成的差异,为今后深入研究植物病原细菌的致病机制奠定基础。

收稿日期: 2013-01-09

作者简介: 陶 晔(1981-),男,河北正定人,助理研究员,硕士,主要从事生物信息学研究。陶晔、刘彬为同等贡献作者。

通讯作者: 董金皋(1963-),男,河北邢台人,教授,博士,主要从事植物分子病理学及生物信息学研究。

1 材料和方法

1.1 数据库搜索

通过美国国立生物技术信息中心即 NCBI 网站查询细菌全基因组数据库找出已完成全基因组序列

的植物病原细菌的全基因组序列(表1)。分析这些完成全基因组序列已注释的基因,以及这些基因的保守结构域,找到存在于这些植物病原细菌基因组中组成Ⅲ型分泌系统的 *hrp* 基因簇。

表1 完成全基因组测序的植物病原细菌

Tab.1 Complete sequence phytopathogenic bacteria

菌属 Genus	菌种 Bacterial species	菌株号 Strain No.	完成测序机构 Completed institution
<i>Agrobacterium</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	C58	U. Washington Cereon
<i>Erwinia</i>	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>	SCRI1043	Sanger Institute
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	DC3000	TIGR
<i>Ralstonia</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>	GMI1000	Genoscope
<i>Xanthomonas</i>	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	306	Sao Paulo state (Brazil) Consortium
	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	8004	Chinese National HGC, Shanghai
	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	ATCC 33913	Sao Paulo state (Brazil) Consortium
	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	85-10	Bielefeld University
	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	MAFF 311018	
	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	KACC10331	NIAB, Rural Development Administration
<i>Xylella</i>	<i>Xylella fastidiosa</i>	9a5c	Sao Paulo state (Brazil) Consortium
	<i>Xylella fastidiosa</i>	Temecula1	Sao Paulo state (Brazil) Consortium

1.2 *hrp* 基因簇比较基因组分析

把搜索到的每个菌株 *hrp* 基因按照基因簇蛋白排列顺序的形式排列。把每个基因的氨基酸序列输入到 Bioedit 软件中,转化为 fasta 格式输出。把输出的序列通过 NCBI 的 Blast 软件在含有 *hrp* 基因并完成全基因组测序的植物病原细菌基因组中进行 BlastP 比对。比对结果的参考标准是:搜索同属的

基因,当其 E 值 $< 10^{-15}$ 时认为该基因与比对基因具同源性。当其 E 值 $> 10^{-15}$ 时,则认为是该菌株独有^[4];当搜索不同属的基因,其 E 值 $< 10^{-5}$ 时,认为该基因和比对的基因具有同源性;当 E 值 $> 10^{-5}$ 时,菌株独有,与其他菌无同源性^[5]。把第一次比对得到的那些没有同源性的基因再在整个细菌基因组数据库中进行比对,找出和其同源的基因。

表2 11 个植物病原细菌 *hrp* 基因簇的大小和 G + C 含量

Tab.2 The size and G + C content of *hrp* gene cluster in eleven phytopathogenic bacterias

菌株名称 Bacterial name	遗传位点 Location	大小/kb Size	<i>hrp</i> 基因簇 G + C 含量/% <i>hrp</i> gene cluster G + C	基因组 G + C 含量/% Genomic G + C
<i>Ralstonia solanacearum</i> GMI1000	RSp0852-RSp0874 (Mega plasmid)	22.13	65.0	66.0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Campestris</i> ATCC 33913	XCC1217-XCC1241 (Chromosome)	23.01	63.0	65.0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Campestris</i> 8004	XC_3001-XC_3025 (Chromosome)	23.01	63.0	64.0
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Vesicatoria</i> 85-10	XCV0408-XCV0435 (Chromosome)	24.10	63.0	64.0
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>Oryzae</i> MAFF 311018	XOO_0080-XOO_0101 (Chromosome)	19.34	62.2	63.7
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>Oryzae</i> KACC10331	XO00076-XO00096 (Chromosome)	18.32	62.0	65.0
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>Citri</i> str. 306	XAC0393-XAC0417 (Chromosome)	24.04	62.0	64.0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Phaseolicola</i> 1448A	PSPPH_1270-PSPPH_1295 (Chromosome)	24.10	59.0	55.0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Syringae</i> B728a	Psyr_1190-Psyr_1218 (Chromosome)	24.50	59.0	58.0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Tomato</i> str. DC3000	PSPT01379-PSPT01405 (Chromosome)	23.53	59.0	58.0
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>Atroseptica</i> SCRI1043	ECA2076-ECA2105 (Chromosome)	23.56	55.0	50.0

1.3 *hrp* 基因簇的生物信息学软件分析

把查找到的 *hrp* 基因簇输入到序列分析软件 DNAMAN、DNASTAR 中,分析这些基因簇的 G + C 含量、长度。把存在于 *hrp* 基因簇的一些同源蛋白

进行系统发育分析。这些蛋白的序列用 ClustalX 连接,然后把输出的结果在 DNASTAR 中建立系统发育树。

2 结果与分析

2.1 *hrp* 基因簇的大小和 G + C 含量的比较

通过对 14 个植物病原细菌的基因组进行分析,发现 *hrp* 基因簇只存在于假单胞菌属、欧文氏菌属、拉尔氏菌属和黄单胞菌属的 11 个菌株中。应用 DNAMAN 和 DNASTAR 等软件对 11 个菌株的 *hrp* 基因簇进行分析,发现 11 个菌株的 *hrp* 基因簇的大小相差不多,基本上在 18 ~ 24 kb(表 2);在 G + C 含量方面,除了 *Ewinia carotovora* subsp. *atroseptica* SCRI1043 和 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 1448A 外,其余菌株基因簇的 G + C 含量与其基因组的没有明显差别,同一个属的基因簇 G + C 含量基本一致。其中,假单胞菌属和欧文氏菌属的 G + C 含量相对较低,而拉尔氏菌属和黄单胞菌属 G + C 含量相对较高。

2.2 不同属 *hrp* 基因簇基因的比较

通过对假单胞菌属、欧文氏菌属、拉尔氏菌属和黄单胞菌属中的 *hrp* 基因簇基因进行比较,发现在假单胞菌属 *hrp* 基因簇中有 5 个属特有基因,欧文氏菌属 *hrp* 基因簇中也有 5 个属特有基因,拉尔氏菌属 *hrp* 基因簇中有 4 个属特有基因,黄单胞菌属 *hrp* 基因簇有 3 个属特有基因(表 3)。在假单胞菌属 *hrp* 基因簇中, *hrpA1*、*hrpG*、*hrpP*、*hrpV* 和 *hrpK₁* 是其属特有基因。在这几个基因中, *hrpA₁* 基因编码 III 型蛋白分泌系统菌毛,对 *hrp* 基因的表达起正向调控作用^[6]; *hrpV* 基因在诱导 *hrp* 基因表达的环境中过量表达就会抑制 *hrp* 基因的表达^[7]。 *hrpA₁* 和 *hrpV* 基因在其他菌株中没有同源性的基因,这可能是由于这 3 个菌株所在属的一种特有的调控方式。在欧文氏菌属 *hrp* 基因簇中其属特有基因是 *hrpP*、*hrpG*、*hrpT*、*hrpV* 和 *hrpA*,其中 *hrpA* 基因在欧文氏菌属中编码 III 型菌毛,起到诱导 III 型效应蛋白的作用^[8]。拉尔氏菌属 RSpGMI1000 中 *hrpZ*、*hrpX*、*hrpY* 和 *hrpV* 是该属特有的基因,其中 *hrpY* 编码的 HrpY 蛋白是 RSpGMI1000 的 *hrp* 菌毛主要组成部分,对 III 型分泌系统分泌效应蛋白到寄主体内起到重要的作用^[9],而 *hrpX* 和 *hrpV* 基因起到调控 III 型菌毛生物合成的作用^[10]。在黄单胞菌属中特有的基因有 *hrpE*、*hrpD₆* 和 *hpaA*,其中 *hrpE* 基因编码的 HrpE 蛋白是该属的 *hrp* 菌毛主要组成部分,可能起引导 III 型效应蛋白到寄主表面的作用; *hpaA* 和 *hrpD₆* 在 *hrpE* 基因的下游,为菌毛的生物合成起到重要的作用^[11]。这 4 个属的 *hrp* 基因簇中的属特有基因都包含一个编码 *hrp* 菌毛的基因,有的属特有基因还存在与菌毛

合成相关的基因。

表 3 四个菌属的 *hrp* 基因簇的属特有基因

Tab. 3 Genera specific gene in the *hrp* gene clusters of four genus

菌属 Genera	基因名 Gene name	功能 Function
<i>Pseudomonas</i>	<i>hrpG</i>	type III secretion protein HrpG
	<i>hrpV</i>	negative regulator of <i>hrp</i> expression HrpV
	<i>hrpP</i>	type III secretion protein HrpP
	<i>hrpK₁</i>	type III helper protein HrpK1
	<i>hrpA₁</i>	type III helper protein HrpA1
<i>Erwinia</i>	<i>hrpP</i>	type III secretion protein
	<i>hrpA</i>	type III secretion protein
	<i>hrpG</i>	type III secretion protein
	<i>hrpT</i>	type III secretion lipoprotein
	<i>hrpV</i>	type III secretion protein
<i>Ralstonia</i>	<i>hrpZ</i>	proble <i>hrpY</i> -related gene
	<i>hrpY</i>	hrp pilus subunit HrpY protein
	<i>hrpX</i>	HrpX protein
	<i>hrpV</i>	HrpV protein
<i>Xanthomona</i>	<i>hrpE</i>	HrpE protein
	<i>hpaA</i>	HpaA protein
	<i>hrpD₆</i>	HrpD ₅ protein

2.3 假单胞菌属的丁香假单胞菌不同变种的 *hrp* 基因簇的比较

丁香假单胞菌中菜豆致病变种 1448A、丁香致病变种 B728a 和番茄致病变种 DC3000 的 *hrp* 基因簇蛋白排列顺序见图 1,可以看出这 3 个菌株基因簇的组成在 *hrpR-hrcC* 和 *hrcU-hrpK₁* 中的基因的名称、基因作用方向都相同,因此推测其为丁香假单胞菌 *hrp* 基因簇的保守区域。但 3 个菌株在 *hrpR-hrcC* 和 *hrcU-hrpK₁* 中的组成明显不同, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* 菌株 DC3000 和 *P. pseudomonas syringae* pv. *syringae* 菌株 B728a 在 *hrcC* 和 *hrpV* 之间有 1 个 *hrpT* 基因,而 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 1448A 的 *hrp* 基因簇中不存在 *hrpT* 基因; *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 菌株 B728a 基因簇的 *hrpV* 和 *hrcU* 基因之间有 2 个编码假定蛋白的基因,而在其他 2 个菌株的基因簇中不存在。通过对 3 个菌株的 *hrp* 基因簇进行 BlastP 分析,发现其中大部分的基因具有同源性(图 1)。而 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* 菌株 DC3000 中的 *hrpA1* 基因和其他 2 个菌株的基因簇中的基因无同源性;另外, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* B728a 的 2 个编码假定蛋白的基因在其他 2 个菌株的基因组中也无同源基因。推测他们与 3 个变种对不同寄主的识别起关键作用。

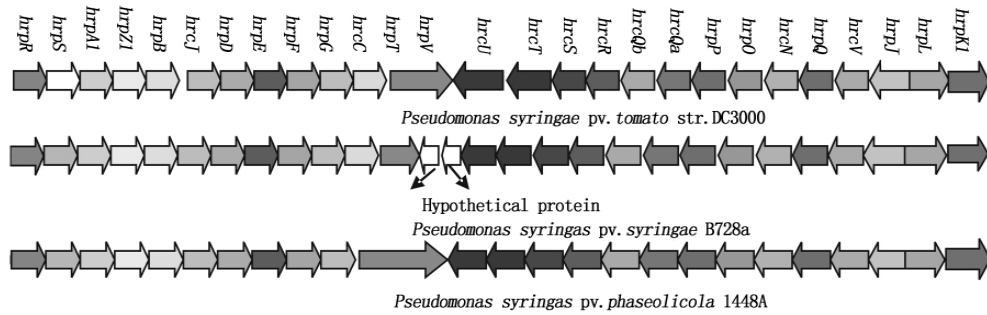
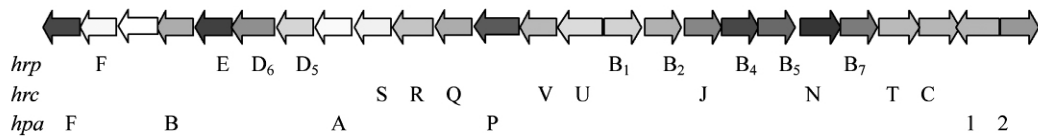


图 1 丁香假单胞菌 3 个变种的 *hrp* 基因簇的比较

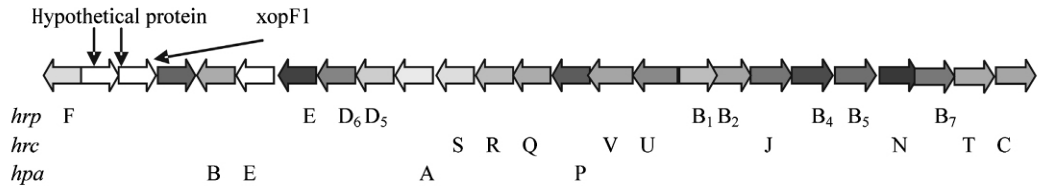
Fig. 1 Comparasion the *hrp* gene cluster of the three *Pseudomonas syringae* species

Xanthomonas axonopodis pv. *citri* str. 306(简称为 XAC306)

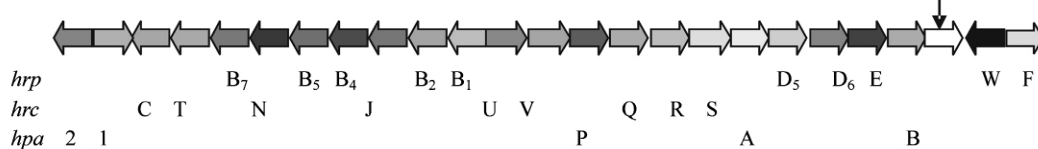
Hypothetical protein



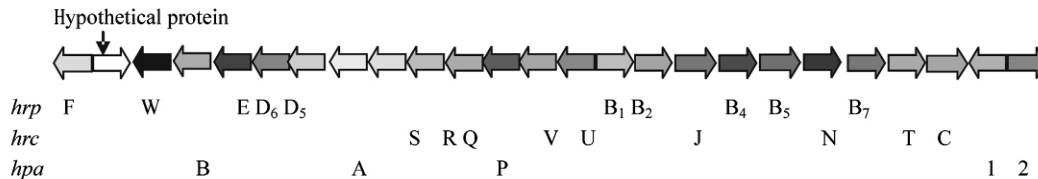
Xanthomonas campestris pv. *vesicatoria* str. 85-10 (简称为 XCV 85-10)



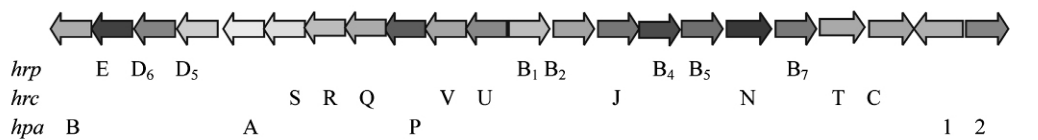
Xanthomonas campestris pv. *campestris* str. 8004 (简称为 XC 8004)



Xanthomonas campestris pv. *campestris* str. ATCC 33913 (简称为 XCC 33913)



Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* KACC10331 (简称为 XOO KACC10331)



Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* MAFF 311018(简称为 XOO MAFF 311018)

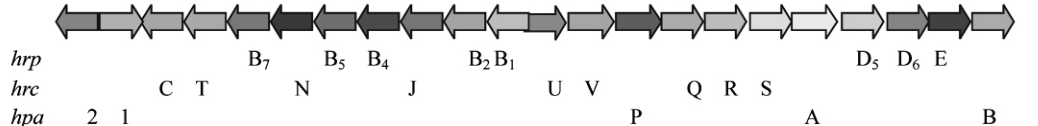


图 2 黄单胞菌属的 *hrp* 基因簇的比较

Fig. 2 Comparasion the *hrp* gene cluster of the *Xanthomonas* species

2.4 黄单胞菌属的 *hrp* 基因簇的比较

黄单胞菌属 6 个菌株的 *hrp* 基因簇排列方式见图 2 ,可以看出 6 个菌株中从 *hrpE*-*hrcC* 区域基因组完全相同 ,只是 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* MAFF 311018 和 *Xanthomonas campestris* pv. *campe-*

tris 8004 的基因方向和其他的菌株不同 ,推测这可能是其属 *hrp* 基因簇组成的核心部分。除此区域外 ,XAC306 菌株基因簇的左端为 *hpaF* 基因 ,而在其他菌株的基因簇中不含有该基因 ,但是在其他菌株基因组中含有与 *hpaF* 基因同源的基因。除了

XCV 85-10 外,其他菌株的基因簇一端都含有 *hpa2* 和 *hpa1* 基因,而 *hpa2* 基因与 XCV 85-10 的 *xopF₁* 基因同源,*hpa1* 的同源基因则存在于 XCV 85-10 的基因组中。在 XCV 85-10 菌株 *hrp* 基因簇中 *hpaE* 基因位于 *hrpE* 和 *hpaB* 之间,而其他菌株的基因簇中不存在该基因,并且在其他菌株的基因组中无与其同源的基因。*xopF₁* 基因的左侧有 2 个编码假定蛋白的基因,而在其他菌株中也无与其同源的基因。XAC306 菌株的 *hpaB* 和 *hpaF* 之间有一编码假定蛋白的基因,在其他菌株中也无与其同源的基因。在 XC8004 和 XCC33913 的外侧有一个 *hrpW* 基因和一个编码假定蛋白的基因,在其他的基因组中也无与其同源的基因,但在其他菌株的基因组中存在 *hrpW* 基因的同源基因,而不存在与假定蛋白同源的基因。

2.5 *hrp* 基因簇的同源基因系统进化分析

在 11 个菌株的 *hrp* 基因簇中,选取 3 个同源的 *hrc* 基因建立系统发育树,如图 3。3 个系统发育树的树形相似,3 个树都明显分为两部分,假单胞菌属和欧文氏菌属的基因在一个分支上,黄单胞菌属和拉尔氏菌属基因在另一个分支上。

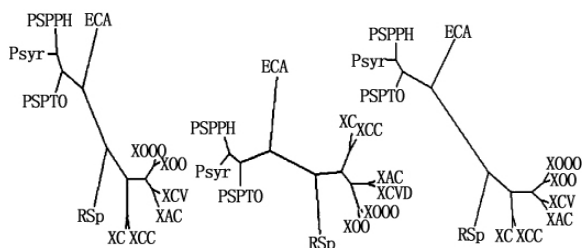


图 3 系统进化分析 3 个 *hrp* 基因簇的同源基因

Fig. 3 Phylogenetic analysis of three homologous protein of *hrp* gene cluster

3 讨论

hrp 基因簇是组成植物病原细菌 III 型分泌系统的核心部分,III 型分泌系统通过分泌效应蛋白导致寄主植物致病,引发非寄主植物的过敏性坏死性反应,是病菌体内重要的致病因子。本研究发现,每个菌株的 *hrp* 基因簇组成不尽相同,不具有保守性,以此认为其具有识别不同效应蛋白的能力,并分泌出体外。通过同源性比对,发现在每个菌属以及每个菌株中都具有其同源性很低的基因,其中在黄单胞菌属、假单胞菌属、欧文氏菌属、拉尔氏菌属其编码 III 型菌毛的基因均具有较低的相似性,认为是其独有的。在假单胞菌属中的 3 个致病变种以及黄单胞菌属中的 3 个种及 2 个致病变种中,编码 III 型菌毛基因的相似性很低。Derrick E 把对番茄和拟南芥致病的 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* 中的 *hrp* 基因簇换成对大豆有致病性而对拟南芥和番茄无致病

性的 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*,发现替换后的菌株对番茄有致病性但是在坏死斑周围的萎黄晕圈大幅度降低;而在正常接种水平下对拟南芥不产生任何明显的反应。然而编码 III 型菌毛的 *hrpA* 基因在这 2 个菌中的序列相似性很低,可能起到重要作用。III 型菌毛在植物细菌中起到穿透寄主细胞的作用,而这些菌株的该基因同源性很低,可能是因为不同菌株其 III 型菌毛和寄主细胞作用的识别方式不同。丁香假单胞菌 3 个变种的 *hrp* 基因簇在 *hrcC-hrcU* 区域基因组成有很大差异。黄单胞菌属 6 个菌株的 *hrp* 基因簇在 *hrpE-hrcC* 以外的其余部分其基因组成和序列比对有较大差异。

上述研究中还有一些基因属于菌株独有的,但是这些基因的功能目前还不清楚,估计这些不同的基因可能影响病原物和寄主植物的作用,还需要试验来做进一步的验证。

参考文献:

- [1] Daniela B, Ulla Bonas. Getting across-bacterial type III effector protein on their way to the plant cell [J]. The EMBO Journal 2002, 21(20): 5313-5322.
- [2] Alfano J R, Collmer A. The type III (*Hrp*) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, Avr proteins and death [J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179(18): 5655-5662.
- [3] Lindgren P B, Peet R C, Panopoulos N J. Gene cluster of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* control pathogenicity of bean plants and hypersensitivity on nonhost plants [J]. Journal of Bacteriology, 1986, 168(2): 512-522.
- [4] Vinita J, Magdalen L, Robert W, et al. Whole-genome sequence analysis of *pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 1448A reveals divergence among Pathovars in genes involved in virulence and transposition [J]. Journal of Bacteriology 2005, 187(18): 6488-6498.
- [5] Robin B, Vinita J, Magdalen L, et al. The complete genome sequence of the *Arabidopsis* and tomato pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 [J]. PNAS, 2003, 100(18): 10181-10186.
- [6] Elina R, Wei W S, Yuan J, et al. *Hrp* pilus: an *hrp*-dependent bacterial surface appendage produced by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 [J]. PNAS, 1997, 94(7): 3459-3464.
- [7] Gail P, Wen L D, Hsiou C H, et al. Negative regulation of *hrp* genes in *Pseudomonas syringae* by *HrpV* [J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(17): 4532-4537.
- [8] Jin Q, Hu W q, Jan B, et al. Visualization of secreted *Hrp* and *Avr* proteins along the *Hrp* pilus during type III secretion in *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas syringae* [J]. Molecular Microbiology 2001, 40(5): 1129-1139.
- [9] Van G F J, Vasse J C, Camus M, et al. *Ralstonia solanacearum* produces *hrp*-dependent pili that are required for PopA secretion but not for attachment of bacteria to plant cells [J]. Mol Microbiol 2000, 36(2): 249-260.
- [10] Frederique V G, Jacques V, Riet D R. Genetic dissection of the *Ralstonia solanacearum* *hrp* gene cluster reveals that the *HrpV* and *HrpX* proteins are required for *Hrp* pilus assembly [J]. Molecular Microbiology, 2002, 44(4): 935-946.
- [11] Ernst W, Tuula O R, Elisabeth H, et al. The type III-dependent *hrp* pilus is required for productive interaction of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* with pepper host plants [J]. Journal of Bacteriology 2005, 187(7): 2458-2468.