

祝友朋, 韩长志, 熊 智. 核桃细菌性黑斑病菌分泌蛋白质的理化性质及特征分析[J]. 江苏农业学报, 2019, 35( 2 ): 295-301.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.02.008

## 核桃细菌性黑斑病菌分泌蛋白质的理化性质及特征分析

祝友朋, 韩长志, 熊 智

(西南林业大学生物多样性保护与利用学院/云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南 昆明 650224)

**摘要:** 核桃细菌性黑斑病严重影响着核桃的产量和品质, 是核桃生产过程中危害较为严重的病害之一。植物病原真菌、细菌以及卵菌的分泌蛋白质在其致病过程中发挥着重要的作用。本研究以核桃细菌性黑斑病菌 CFBP2528、CFBP7179、CFBP8253、DW3F3、J303、NCPB1447、Xaj417 7 个菌株分泌蛋白质氨基酸序列为基础数据, 利用蛋白质数据库、PHD、ProtScale、TargetP 1.1 Server、SMART 等网站在线预测分析其理化性质、二级结构、疏水性、转运肽及保守结构域等性质, 明确核桃细菌性黑斑病菌的分泌蛋白质所具有的特征。结果表明, 在所分析的 7 个菌株 520 个分泌蛋白质中, 分泌蛋白质的理论等电点集中在 6.01~7.00, 蛋白质数量所占比例为 26.92%; 不稳定性系数集中在 20.01~40.00, 其蛋白质数量所占比例为 63.65%; 亲水值小于 0 的蛋白质数量所占比例为 76.51%, 亲水性最强的氨基酸残基中数量最多的是 D, 所占比例为 13.64%, 疏水性最强的氨基酸残基中数量最多的是 L, 所占比例为 29.58%; 分泌蛋白质均含有无规则卷曲、 $\alpha$  螺旋、 $\beta$  折叠、TM(跨膜螺旋) 二级结构, 其所占比例分别为 27.56%、27.17%、26.45%、1.03%; 转运肽集中在分泌通路, 其所占比例为 95.38%; 每个菌株平均有 16 个分泌蛋白质具有保守结构域, 所占比例为 21.35%。上述研究结果为深入解析核桃细菌性黑斑病菌分泌蛋白质的功能冗余性和多样性奠定了基础。

**关键词:** 核桃细菌性黑斑病菌; 分泌蛋白; 理化性质; 生物信息学分析

**中图分类号:** S664.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2019)02-0295-07

## Physicochemical properties and characteristic analysis of secretory proteins in walnut bacterial black spot pathogen

ZHU You-peng, HAN Chang-zhi, XIONG Zhi

(College of Biodiversity Conservation and Utilization, Southwest Forestry University/The Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, Kunming 650224, China)

**Abstract:** The bacterial black spot disease seriously affects the yield and quality of walnut, and it is one of the more serious diseases in the production process of walnut. Secreted proteins from plant pathogenic fungi, bacteria and oomycetes

收稿日期: 2018-07-06

基金项目: 云南省高校优势特色重点学科(生物学)建设项目(50097505); 国家留学基金项目[留金法(2017)5086号、201708535056]; 云南省研发经费投入补助项目(2016YB462、2017YB236)

作者简介: 祝友朋(1996-), 男, 云南曲靖人, 硕士研究生, 研究方向: 经济林木病害生物防治与真菌分子生物学。(Tel) 18208874207; (E-mail) 3420204485@qq.com

通讯作者: 韩长志, (Tel) 15877923075; (E-mail) hanchangzhi2010@163.com

play important roles in their pathogenesis. In this study, based on the secreted protein sequences of seven strains of black spot bacteria such as CFBP2528, CFBP7179, CFBP8253, DW3F3, J303, NCPB1447 and Xaj417, the protein databases, PHD, ProtScale, TargetP 1.1 Server, SMART were used to predict the physicochemical properties, secondary structure, hydrophobicity, transit peptides and conserved domains, and clarify the characteristics of secreted proteins in the bacterial black spot pathogen of walnut. The results showed that the theoretical isoelectric

point of 520 secreted proteins from seven strains was concentrated at 6.01–7.00, and the protein accounted for 26.92%. The instability coefficient was concentrated at 20.01–40.00, and the protein accounted for 63.65%. The proportion of proteins with hydrophilic value less than 0 was 76.51%. The most hydrophilic amino acid residue was D, accounting for 13.64%, the most hydrophobic amino acid residue was L, accounting for 29.58%. The secreted proteins all contained secondary structures such as random coil, alpha helix, beta strand, TM (transmembrane helix), accounting for 27.56%, 27.17%, 26.45% and 1.03%, respectively. The transit peptides were concentrated in the secretory pathway, accounting for 95.38%. On average, 16 secreted proteins of each strain had conserved domains, accounting for 21.35%. The above results lay a foundation for further analysis of the functional redundancy and diversity of secreted proteins in the bacterial black spot pathogen of walnut.

**Key words:** bacterial black spot pathogen of walnut; secretory protein; physicochemical properties; bioinformatics analysis

核桃作为中国第一大干果树种,其在经济林产业服务国家经济发展和生态保障方面发挥着重要作用,目前,中国在核桃种植面积和产量方面均居世界第一,作为核桃的种植面积( $2.87 \times 10^6 \text{ hm}^2$ )、产量( $1.15 \times 10^6 \text{ t}$ )、产值( $3.15 \times 10^{10}$  元)均居全国之首的重要省份——云南省,近些年,大力发展核桃产业<sup>[1]</sup>。云南省 129 个县(市、区)中 90% 以上种植核桃,核桃产业已惠及  $2.6 \times 10^6$  多名山区群众,成为云南省覆盖面最广,汇集群众最多,持续发展潜力最大的高原特色产业之一。然而,近些年对中国核桃第一州(市)——云南省大理州核桃主要生产区开展核桃病害调研,发现核桃炭疽病、核桃细菌性黑斑病等病害发生日益严重<sup>[2-3]</sup>。

学术界有关核桃细菌性黑斑病菌的报道尤以核桃黄单胞杆菌(*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*) 报道为主<sup>[4-6]</sup>,受该病菌侵染的核桃,果实容易腐烂、早落,出仁率和含油率均降低,核桃品质下降并减产,严重时落果率高达 60%~80%。前期通过对 *X. arboricola* pv. *juglandis* (菌株编号分别为 CFBP2528、CFBP7179、CFBP8253、DW3F3、J303、NCPPB1447、Xaj417) 开展分泌蛋白质预测,以分泌蛋白质所具有的特征(N-端含有信号肽、不含有跨膜结构域、没有 GPI 锚定位点、将蛋白质分泌在胞外)为依据,利用 SignalP v4.1、ProtCompB v9.0、TM-HMM v2.0、big-PI Fungal predictor、TargetP v1.1 等生物信息学分析程序进行分析,明确上述 7 个菌株中含有的分泌蛋白质数量分别为 76 个、79 个、77 个、78 个、67 个、75 个、68 个,平均为 74 个。分泌蛋白质在植物病原菌侵染植物过程中发挥着重要的作用,逐渐成为植物病理学研究的热点之一<sup>[7]</sup>,有关植物病原真菌(禾谷炭疽菌<sup>[8]</sup>、希金斯炭疽菌<sup>[9]</sup>、稻瘟菌<sup>[10]</sup>、大丽轮枝菌<sup>[11]</sup>、香蕉枯萎病菌<sup>[12]</sup>)、植物

病原卵菌(樟疫霉<sup>[13]</sup>、致病疫霉<sup>[14]</sup>)、植物病原细菌(枯草芽孢杆菌 BEST195<sup>[15]</sup>、结核分枝杆菌<sup>[16]</sup>、香蕉细菌性软腐病菌<sup>[17]</sup>、茄青枯病菌<sup>[18]</sup>及丁香假单胞杆菌番茄致病变种<sup>[19]</sup>)的分泌蛋白质已经明确。然而,国内外对于植物病原细菌特别是经济林木上病原细菌分泌蛋白质的研究尚不够深入<sup>[7]</sup>,尚未见到对核桃细菌性黑斑病菌分泌蛋白质理化性质及特征的分析报道<sup>[20]</sup>。

本研究基于前期的研究基础,对核桃细菌性黑斑病菌中分泌蛋白质的理化性质、不稳定系数、疏水性、二级结构、转运肽及保守结构域开展生物信息学分析,以期对核桃细菌性黑斑病的深入研究和有效防治提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 分泌蛋白质来源

核桃细菌性黑斑病菌的全蛋白质组序列来源于 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Xanthomonas+arboricola+pv.+juglandis>)。对 *X. arboricola* pv. *juglandis* (菌株编号分别为 CFBP2528、CFBP7179、CFBP8253、DW3F3、J303、NCPPB1447、Xaj417) 开展分泌蛋白质预测,获得 7 个菌株的 520 个分泌蛋白质氨基酸序列。

### 1.2 分泌蛋白质性质分析

运用蛋白质数据库 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 分析分泌蛋白质的理化性质,包括理论等电点、不稳定性系数、总平均亲水性等,采用 PHD (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) 分析分泌蛋白质的二级结构,采用 ProtScale (<https://web.expasy.org/protscale/>) 分析分泌蛋白质的疏水性,采用 TargetP 1.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) 分析分泌蛋白质

的转运肽,采用 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 分析分泌蛋白质的保守结构域,然后对分析数据进行整理归纳。

## 2 结果

### 2.1 分泌蛋白质的理论等电点

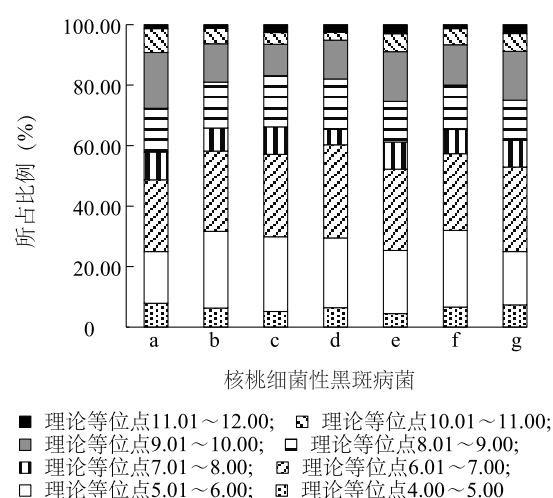
通过对核桃细菌性黑斑病菌 CFBP2528、CFBP7179、CFBP8253、DW3F3、J303、NCPB1447、Xaj417 7 个菌株的 520 个分泌蛋白质所具有的理论等电点数值进行分析,CFBP2528 菌株的分泌蛋白质 WP\_039528270.1 (ID 号) 具有最低理论等电点,为 4.14; CFBP7179 菌株的分泌蛋白质 WP\_047130622.1 (ID 号) 具有最高理论等电点,为 11.71。将上述分泌蛋白质,以理论等电点 1.00 为 1 个间隔单位,对其进行归类分析,结果表明,核桃细菌性黑斑病菌分泌蛋白质理论等电点主要集中于 6.01~7.00,其数量为 140 个,所占比例为 26.92%;理论点为 5.01~6.00 的分泌蛋白质有 16 个,所占比例为 22.12%。同时,对属于酸性蛋白质(理论等电点小于 6.01)的分泌蛋白质进行分析,其数量平均为 21 个,所占比例为 28.46%;对属于中性蛋白(理论等电点位于 6.01~8.00)的分泌蛋白进行分析,其数量平均为 26 个,所占比例为 35.00%;对属于碱性蛋白质(理论等电点大于 8.00)的分泌蛋白质进行分析,其数量平均为 27 个,所占比例为 36.54%(图 1)。上述结果表明核桃细菌性黑斑病菌 7 个菌株的分泌蛋白质中酸性蛋白质、中性蛋白质、碱性蛋白质数量分布较为均匀,所占比例为 1.00 : 1.23 : 1.28。

### 2.2 分泌蛋白质的不稳定性系数

对 520 个分泌蛋白质的不稳定性系数进行统计分析,结果表明,分泌蛋白质的不稳定性系数集中在 20.01~40.00(所占比例为 63.65%)。同时,不稳定性系数小于 40.01(稳定蛋白质)的分泌蛋白质有 51 个,所占比例为 68.65%;不稳定性系数大于 40.01(不稳定蛋白质)的分泌蛋白质有 23 个,所占比例为 31.35%(图 2)。上述结果表明,核桃细菌性黑斑病菌的分泌蛋白质多属于稳定蛋白质。

### 2.3 分泌蛋白质的亲水性

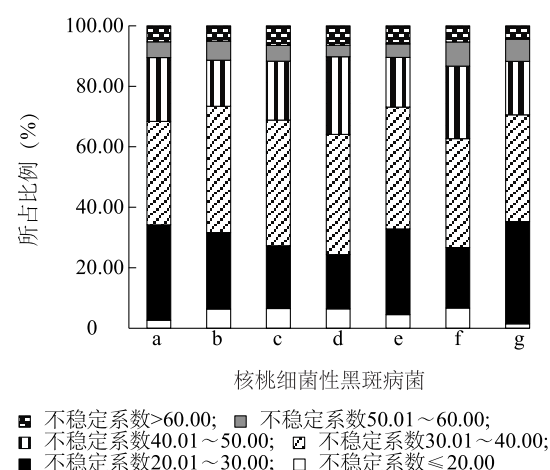
对核桃细菌性黑斑病菌的分泌蛋白质的亲水性进行统计分析,结果表明,分泌蛋白质多数属于亲水性蛋白(亲水性值小于 0),其数量有 57 个,所占比



a: CFBP2528; b: CFBP7179; c: CFBP8253; d: DW3F3; e: J303; f: NCPB1447; g: Xaj417。

图 1 核桃细菌性黑斑病菌中不同菌株间分泌蛋白质理论等电点对比分析

Fig.1 Comparison analysis of isoelectric points of secretory protein between different strains of walnut bacterial black spot pathogen



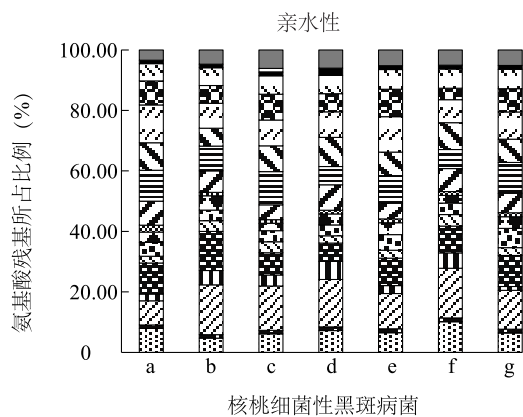
a: CFBP2528; b: CFBP7179; c: CFBP8253; d: DW3F3; e: J303; f: NCPB1447; g: Xaj417。

图 2 核桃细菌性黑斑病菌不同菌株间分泌蛋白质不稳定性系数对比分析

Fig.2 Comparison analysis of instability coefficient of secretory protein between different strains of walnut bacterial black spot pathogen

例为 76.54%;同时,疏水性蛋白质(亲水性值大于 0)数量有 17 个,所占比例为 23.46%(图 3)。上述结果表明,核桃细菌性黑斑病菌的分泌蛋白质多数属于亲水性蛋白质。

此外,对分泌蛋白质的疏水性进行统计分析,结果表明,分泌蛋白质中亲水性蛋白质有 56 个,所占比例为 75.96%,疏水性蛋白质有 18 个,所占比例为 24.04%。对分泌蛋白质亲水性最强氨基酸残基、疏水性最强氨基酸残基种类进行统计分析,明确前者有 17 种氨基酸残基,缺少 F(苯丙氨酸)、I(异亮氨酸)、W(色氨酸)3 种氨基酸残基,存在较多的是 D(天冬氨酸)、R(精氨酸)、G(甘氨酸)3 种氨基酸残基,所占比例分别为 13.64%、9.44%、9.27%(图 4);后者有 13 种氨基酸残基,缺少 E(谷氨酸)、H(组氨酸)、K(赖氨酸)、N(天冬酰胺)、Q(谷氨酰胺)、R、W、Y(酪氨酸)等氨基酸残基,存在较多的是 L(亮氨酸)、A(丙氨酸)、V(缬氨酸)3 种氨基酸残基,所占比例分别为 29.58%、26.92%、11.27%(图 4)。



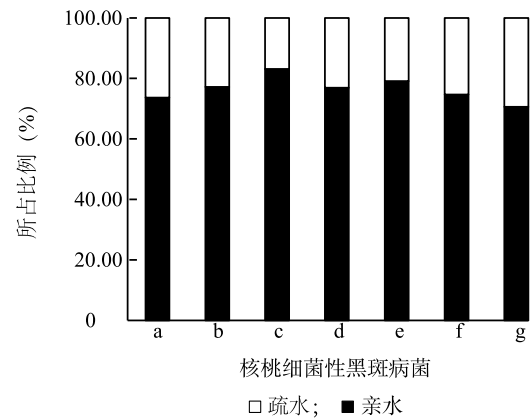
a:CFBP2528;b:CFBP7179;c:CFBP8253;d:DW3F3;e:J303;f:NCPBP1447;g:Xaj417。

图 4 核桃细菌性黑斑病菌不同菌株间亲水性最强和疏水性最强分泌蛋白质的氨基酸的分布

Fig.4 Amino acid distribution of secretory proteins with the strongest hydrophilicity and hydrophobicity between different strains of walnut bacterial black spot pathogen

## 2.4 分泌蛋白质二级结构组成特征

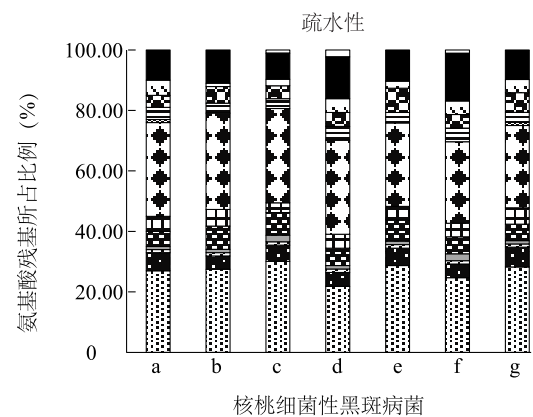
对核桃细菌性黑斑病菌的分泌蛋白质进行二级结构预测并统计分析,结果表明,分泌蛋白质均含有无规则卷曲、 $\alpha$ 螺旋、 $\beta$ 折叠、TM(跨膜螺旋)等结构,平均所占比例分别为 27.56%、27.17%、26.45%、1.03%,即比例为 1.000 : 0.986 : 0.960 : 0.037。同时,对分泌蛋白质中的酸性蛋白质、中性蛋白质及碱性蛋白质二级结构组成进行统计分析,就无规则卷曲、 $\alpha$ 螺旋、 $\beta$ 折叠、TM(跨膜螺旋)等结构组成比例而



a:CFBP2528;b:CFBP7179;c:CFBP8253;d:DW3F3;e:J303;f:NCPBP1447;g:Xaj417。

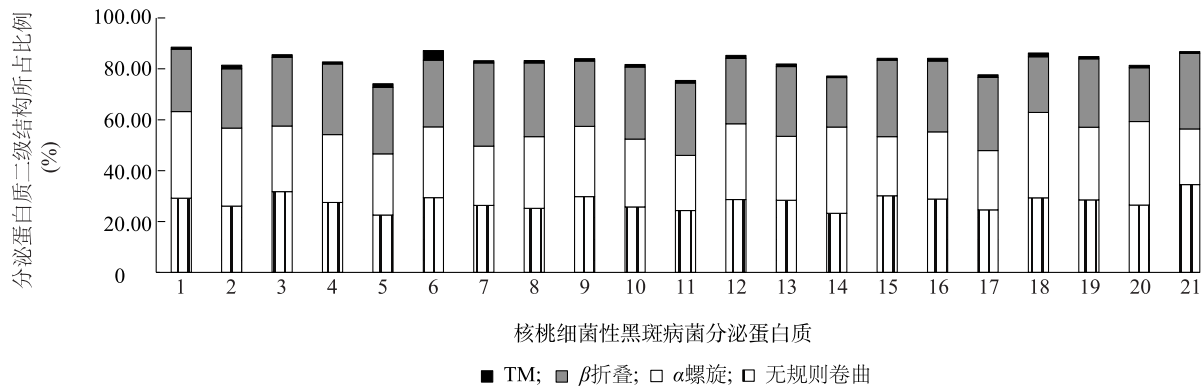
图 3 核桃细菌性黑斑病菌不同菌株间分泌蛋白亲水性对比分析

Fig.3 Comparison analysis of hydrophilicity of secretory protein between different strains of walnut bacterial black spot pathogen



言,在酸性蛋白质中所占比例分别为 27.70%、27.09%、28.05%、0.92%;在中性蛋白质中所占比例分别为 24.35%、27.32%、24.99%、1.05%;在碱性蛋白质中所占比例分别为 30.54%、27.08%、26.59%、1.09%(图 5)。因此,核桃细菌性黑斑病菌分泌蛋白质的酸性蛋白质二级结构组成尤以  $\beta$  折叠为主、以跨膜螺旋结构较少为特征,中性蛋白质二级结构组成则以跨膜螺旋结构较少为特征,碱性蛋白质二级结构组成则以无规则卷曲较多为特征。





1:CFBP2528 分泌蛋白质(酸性);2:CFBP2528 分泌蛋白质(中性);3:CFBP2528 分泌蛋白质(碱性);4:CFBP7179 分泌蛋白质(酸性);5:CFBP7179 分泌蛋白质(中性);6:CFBP7179 分泌蛋白质(碱性);7:CFBP8253 分泌蛋白质(酸性);8:CFBP8253 分泌蛋白质(中性);9:CFBP8253 分泌蛋白质(碱性);10:DW3F3 分泌蛋白质(酸性);11:DW3F3 分泌蛋白质(中性);12:DW3F3 分泌蛋白质(碱性);13:J303 分泌蛋白质(酸性);14:J303 分泌蛋白质(中性);15:J303 分泌蛋白质(碱性);16:NCPPB1447 分泌蛋白质(酸性);17:NCPPB1447 分泌蛋白质(中性);18:NCPPB1447 分泌蛋白质(碱性);19:Xaj417 分泌蛋白质(酸性);20:Xaj417 分泌蛋白质(中性);21:Xaj417 分泌蛋白质(碱性)。

图5 核桃细菌性黑斑病菌不同菌株间分泌蛋白质二级结构组成对比分析

Fig.5 Comparative analysis of secondary structure of secretory proteins between different strains of walnut bacterial black spot pathogen

## 2.5 分泌蛋白质的转运肽

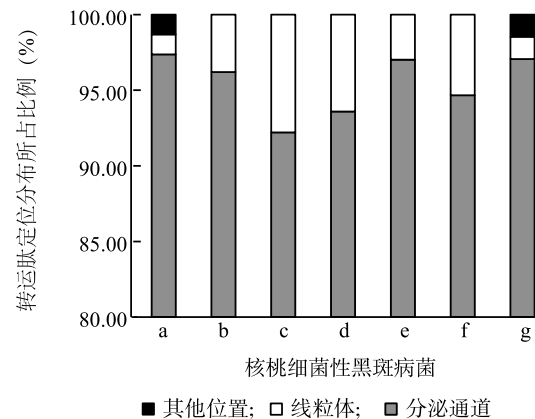
对核桃细菌性黑斑病菌的分泌蛋白质的转运肽预测分析,明确分泌蛋白质的线粒体靶向肽预测值、信号肽预测值、定位情况和预测可靠性。其中转运肽定位分布(图6)中,平均有71个定位在分泌通道、3个定位在线粒体,所占比例分别为95.38%、4.23%,CFBP2528和Xaj417还含有1个其他位置,占比为0.38%;同时,就预测结果可靠性而言,平均有58个分泌蛋白质的预测可靠性大于0.600,所占比例为78.46%,有4个分泌蛋白质的预测可靠性小于0.200,所占比例为5.19%。

## 2.6 分泌蛋白质的保守结构域

通过对核桃细菌性黑斑病菌的520个分泌蛋白质开展保守结构域的预测及分析,发现有111个分泌蛋白质存在明显的保守结构域,即每个菌株平均有16个分泌蛋白质具有明显的保守结构域(图7),所占比例为21.35%。不同菌株分泌蛋白质所存在的保守结构域种类和数量不尽相同,主要涉及的种类有24种,最少的类别涉及数量仅为1个,最多的类别涉及的数量为14个。

## 3 讨论

本研究基于前期的研究基础,明确核桃细菌性黑斑病菌CFBP2528、CFBP7179、CFBP8253、DW3F3、J303、NCPPB1447、Xaj417等7个菌株的分

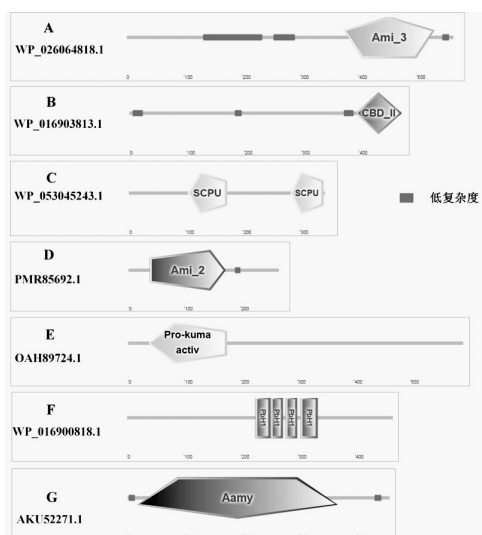


a:CFBP2528;b:CFBP7179;c:CFBP8253;d:DW3F3;e:J303;f:NCPPB1447;g:Xaj417。

图6 核桃细菌性黑斑病菌不同菌株间分泌蛋白质转运肽的分布情况

Fig.6 Distribution of transit peptide of secretory proteins between different strains of walnut bacterial black spot pathogen

泌蛋白质所具有的理化性质及特征,酸性蛋白质、中性蛋白质、碱性蛋白质数量分布较为均匀,数量所占比例为1.00:1.23:1.28;尤以稳定蛋白质、亲水性蛋白质居多;亲水性最强的氨基酸残基数量较多的是D、G、R3种氨基酸残基,疏水性最强的氨基酸残基数量较多的是L、A、V3种氨基酸残基;均存在无规则卷曲、α螺旋、β折叠、跨膜螺旋等二级结构,所占比例为1.000:0.986:0.959:0.037;拥有明显保



A: CFBP2528; B: CFBP7179; C: CFBP8253; D: DW3F3; E: J303; F: NCPPB1447; G: Xaj417。

图7 核桃细菌性黑斑病菌不同菌株间分泌蛋白质的保守结构域情况

Fig.7 Conserved domain of secreted proteins between different strains of walnut bacterial black spot pathogen

守结构域的分泌蛋白质所占比例较低。

近些年,学术界对核桃细菌性黑斑病菌的报道涉及树生黄单胞菌胡桃变种(*Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*)<sup>[21-22]</sup>、成团泛菌(*Pantoea agglomerans*)以及上述细菌的复合<sup>[23]</sup>等,本研究仅对*X. arboricola* pv. *juglandis*的分泌蛋白质开展了生物信息学分析,上述其他致病菌的分泌蛋白质及其理化性质情况如何,尚需进一步明确。同时,本研究采用对比分析和平均值的方法对*X. arboricola* pv. *juglandis*的7个菌株的分泌蛋白质进行分析,初步明确了核桃细菌性黑斑病菌的分泌蛋白质的理化性质及其特征。目前,国内外有关植物病原菌(真菌、细菌、卵菌等)分泌蛋白质的预测报道大多集中在某一个菌株开展<sup>[8-20]</sup>,本研究对同一种病原菌的几个菌株分泌蛋白质的预测尚属首次,具有一定的创新性,但采用不同菌株分泌蛋白质特征值的平均数来衡量其理化性质,其准确性有待于进一步验证。

此外,本研究明确了7个*X. arboricola* pv. *juglandis*菌株的分泌蛋白质数量平均为74个,以碱性蛋白质、稳定蛋白质、亲水性蛋白质居多,二级结构中跨膜螺旋较少,保守结构域的种类和数量较少。就单个菌株的分泌蛋白质所具有的特征而言,亲水性蛋白质的比例为70.59%~83.12%,酸性蛋白质的

比例为25.00%~31.65%,中性蛋白质的比例为32.89%~36.76%,碱性蛋白质的比例为33.77%~42.11%,二级结构中无规则螺旋的比例为26.23%~30.06%, $\alpha$ 螺旋的比例为25.81%~29.49%, $\beta$ 折叠的比例为25.14%~28.18%,TM的比例分布为0.85%~1.28%,转运肽定位在分泌通路的比例为92.21%~97.37%,定位在线粒体的比例为1.32%~7.79%,保守结构域的数量为13~18个。推测上述不同菌株之间分泌蛋白质理化性质特征差异的原因与菌株的生存环境、培养因素等有关。

通过对*X. arboricola* pv. *juglandis*的分泌蛋白质的疏水性进行分析,明确亲水性蛋白和疏水性蛋白质平均有56个和18个,然而,通过蛋白质数据库在线分析理化性质,明确亲水性蛋白质和疏水性蛋白质平均有57个和17个,上述2种不同的预测方法导致了不同的结果。具体而言,在上述2种预测方法中,有19个分泌蛋白质的疏水性结果存在差异性,分别为CFBP2528菌株(WP\_016901454.1)、CFBP7179菌株(WP\_016901454.1、WP\_016902921.1、WP\_026064112.1)、CFBP8253菌株(WP\_016901454.1、WP\_016902921.1、WP\_026064112.1、WP\_053045589.1)、DW3F3菌株(PMR89132.1、PMR89352.1、PMR89417.1)、J303菌株(OAH79955.1、OAH79250.1、OAH76971.1)、NCPB1447菌株(WP\_016901454.1、WP\_016902921.1、WP\_026064112.1、WP\_026064348.1)、Xaj417菌株(AKU51471.1),进一步对比分析,发现2种方法所预测的值相差最小为0.183,相差最大为12.992,造成上述差异的原因有待进一步明确。

同时,对核桃细菌性黑斑病菌分泌蛋白质所具有的保守结构域进行分析,具有明显保守结构域的分泌蛋白质所占比例仅为21.35%,推测上述具有不同结构域的分泌蛋白质在实现核桃细菌性黑斑病菌侵染核桃后所具有的功能具有多样性特点。

#### 参考文献:

- [1] 李 娅,韩长志. 云南省核桃产业发展现状及对策分析[J]. 经济林研究, 2012, 30(4): 162-167.
- [2] 韩长志,霍 超. 核桃炭疽病生防菌 yb33 的鉴定及其次生代谢物特性分析[J]. 经济林研究, 2015, 33(3): 63-67, 74.
- [3] 韩长志,霍 超. 核桃炭疽病生物防治菌株 YB-4-15 的筛选和鉴定[J]. 经济林研究, 2016, 34(1): 83-89.
- [4] 曲文文,杨克强,刘会香,等. 山东省核桃主要病害及其综合防

- 治[J]. 植物保护, 2011, 37(2): 136-140.
- [5] 王琳莹. 石棉县核桃黑斑病与炭疽病原鉴定及其防治技术研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2015.
- [6] 张永强, 朱惠英, 冯 强, 等. 核桃黑斑病病原研究与防治试验初报[J]. 甘肃林业科技, 2004, 29(2): 41-42.
- [7] 韩长志, 许 僊. 植物病原丝状真菌分泌蛋白及 CAZymes 的研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2017, 41(5): 152-160.
- [8] 韩长志. 全基因组预测禾谷炭疽菌的分泌蛋白[J]. 生物技术, 2014, 24(2): 36-41.
- [9] 韩长志. 全基因组预测希金斯炭疽菌的候选效应分子[J]. 生物技术, 2015, 25(6): 546-551.
- [10] 陈继圣, 郑士琴, 郑 武, 等. 全基因组预测稻瘟菌的分泌蛋白[J]. 中国农业科学, 2006, 39(12): 2474-2482.
- [11] 田 李, 陈捷胤, 陈相永, 等. 大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* VdLs.17)分泌组预测及分析[J]. 中国农业科学, 2011, 44(15): 3142-3153.
- [12] 聂燕芳, 黄嘉瑶, 周玲苑, 等. 香蕉枯萎病菌热带4号小种基因组规模分泌蛋白的预测与分析[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(2): 288-294.
- [13] 韩长志. 全基因组预测樟疫霉的候选效应分子[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2015, 39(2): 69-74.
- [14] 周晓罡, 侯思名, 陈铎文, 等. 马铃薯晚疫病病原全基因组分泌蛋白的初步分析[J]. 遗传, 2011, 33(7): 125-133.
- [15] 任文来, 韩长志, 刘 通, 等. 全基因组预测枯草芽孢杆菌 BEST195 的分泌蛋白[J]. 西南林业大学学报, 2016, 36(6): 106-111.
- [16] GOMEZ M, JOHNSON S, GENNARO M L. Identification of secreted proteins of *Mycobacterium tuberculosis* by a bioinformatic approach[J]. Infection and Immunity, 2000, 68(4): 2323-2327.
- [17] 肖文超, 范会云, 白亭亭, 等. 香蕉细菌性软腐病菌 XJ8-3-3 基因组中 ORFs 的信号肽及分泌蛋白功能预测分析[J]. 果树学报, 2014, 31(6): 1057-1064.
- [18] 黄俊丽, 吴金钟, 肖崇刚, 等. 植物病原细菌 *Ralstonia solanacearum* GMI1000 中分泌蛋白信号肽分析[J]. 遗传, 2007, 29(11): 1409-1416.
- [19] 刘雅婷, 李正跃, 朱有勇, 等. 植物病原细菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* 基因组中的信号肽分析[J]. 遗传, 2005, 27(6): 103-108.
- [20] 韩长志, 祝友朋, 许 僊. 枯草芽孢杆菌 XF-1 的碳水化合物活性酶类(CAZymes)蛋白预测与遗传关系分析[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2018, 46(3): 95-100.
- [21] SOLAR A, COLARIC M, USENIK V, et al. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.)[J]. Plant Science, 2006, 170(3): 453-461.
- [22] 张 慧, 乔 旭, 王云霞, 等. 陇南市核桃细菌性黑斑病的发生与防治[J]. 现代农业科技, 2012(14): 118.
- [23] 肖 波, 卢世栋, 杨 斌, 等. 云南核桃细菌性黑斑病病原菌的分离与鉴定[J]. 贵州农业科学, 2017, 45(12): 55-58, 63.

(责任编辑:陈海霞)