

植物病原真菌毒素结合蛋白研究现状

王朝华, 董金皋

(河北农业大学植物病原真菌毒素实验室, 保定 071001)

摘要: 植物病原真菌毒素结合蛋白的研究是近年来毒素研究中的热点及难点之一。本文介绍了真菌中广义蠕孢菌属(*Helminthosporium*)、链格孢属(*Alternaria*)、壳梭孢属(*Fusicoccum*)、轮枝孢属(*Verticillium*)等10余种真菌毒素在结合蛋白研究中的最新进展,尤其是较为详细地介绍了甘蔗长蠕孢毒素、燕麦维多利亚毒素、玉米长蠕孢T小种毒素、玉米炭色蠕孢菌毒素结合蛋白研究的技术与方法。提出毒素结合蛋白的研究应采取同位素技术与免疫化学相结合的技术路线。这对探讨植物与病原菌在分子水平上的识别机制将具有重要意义。

关键词: 真菌;真菌毒素;结合蛋白;作用位点

Advances on Plant Pathogenic Mycotoxin Binding Proteins

WANG Chao-hua, DONG Jin-gao

(Mycotoxin Laboratory, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001)

Abstract: Toxin-binding protein is one of the key subjects in plant pathogenic mycotoxin research. In this paper, new advances in toxin-binding protein of 10 kinds of plant pathogenic mycotoxins belonging to *Helminthosporium*, *Alternaria*, *Fusicoccum*, *Verticillium* were reviewed, especially the techniques and methods of toxin-binding proteins of HS-toxin, HV-toxin, HMT-toxin, HC-toxin. It was proposed that the isotope-labeling technique and immunological chemistry should be combined together in research of toxin-binding protein, which will be significant to study the molecular recognition mechanism between host and fungus.

Key words: Fungus; Mycotoxin; Binding proteins; Action site

目前国内外对植物病原真菌毒素的研究已进入毒素结合蛋白和毒素产生遗传等分子领域。在研究病原菌与寄主互作模式中,人们推测毒素发挥作用需要特殊适宜的受体,毒素与其结合进而引发寄主的生理生化过程。研究表明,植物病原菌毒素的受体大多是蛋白质,称为毒素结合蛋白(toxin-binding protein, TBP),少数为酶类及多肽。本文结合我们实验室的工作对各类真菌毒素结合蛋白的研究现状与方法做如下介绍。

1 广义蠕孢菌毒素的结合蛋白

1.1 甘蔗长蠕孢毒素(HS-toxin)

用 ^{14}C 标记的HS-毒素,处理抗感品种,并提取毒素结合蛋白,发现在抗病品种和感病品种的细胞

膜上都具有结合蛋白,且分子量均为48ku,感病品种的结合蛋白可与毒素结合,并至少有2个结合位点,而抗病品种的结合蛋白不与毒素相结合^[1]。进一步研究发现,感病品种结合蛋白和抗病品种的结合蛋白均含有4个亚基,只是2种结合蛋白的电泳迁移率和4个亚基氨基酸残基不同,表现为:①抗病品种结合蛋白的迁移率稍大于感病品种;②赖氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸数量不同。结合蛋白具有典型的膜蛋白的特征,即不含半胱氨酸,但富含脂肪族氨基酸。利用 $[^3\text{H}]\text{NaBH}_4$ (硼氢化钠)还原磷酸吡哆醛与蛋白形成的复合物的方法也证实了甘蔗细胞中质膜表面存在毒素结合蛋白。不过,这种方法也有一些缺点,即用磷酸吡哆醛和 $[^3\text{H}]\text{NaBH}_4$ 处理的蛋白比未被处理的蛋白的迁移率要大。以结合蛋白为

收稿日期:2001-07-31

基金项目:河北省自然科学基金项目(302318)、国家教育部骨干教师计划和河北农业大学9816重点资助项目

作者简介:王朝华(1977-),女,河北井陘人,河北农业大学在读硕士。董金皋为本文通讯作者, Tel:0312-7521413; Fax:0312-7521255; E-mail:

dongjg@zj.cn.com

抗原制备的抗血清经上述处理后得到的 $[^3\text{H}]$ 抗体,能与原生质体发生凝集反应,但不能与液泡膜发生该反应;而且制备的叶绿体膜组分不能结合毒素。

HS-毒素的致病作用受到自身与结合蛋白结合能力的调节,有3种假说:①糖脂的调节作用。即在抗病品种的细胞质膜内有一种糖脂,可以阻止毒素与膜蛋白的结合;②结合蛋白结构的调节作用。即由于氨基酸的不同,使蛋白质三、四级结构发生了改变,而成为隐蔽状态;③蛋白质浓度调节作用。即结合蛋白均是一种混合蛋白,其中含有高分子量的多聚体(multimer)和低分子量的寡聚体(oligomer),寡聚体数量随蛋白浓度而变化,蛋白浓度越低寡聚体数量越大,结合毒素的能力也越大,抗病品种中由于蛋白质浓度高,寡聚体数量少,结合毒素能力弱,从而表现抗病。由此得出结论:抗病或感病的甘蔗品系均可与长蠕孢菌结合,其结合能力在活体内可能受蛋白浓度、糖脂和蛋白结构三者之一或共同调节^[2]。

1.2 燕麦维多利亚毒素(HV-toxin, victorin)

关于HV-毒素的作用位点有3种假说:(1)抗病品种的细胞膜上没有毒素结合蛋白(victorin binding protein, VBP),而感病品种的细胞膜上有毒素结合蛋白;(2)毒素产生的毒害效应不在细胞质膜上,而是在细胞壁上,质膜是一种次级效应;(3)毒素的作用是在细胞内而不是在细胞表面。

用 ^{125}I 标记的HV-毒素处理叶片,提取蛋白进行电泳,发现HV-毒素仅在活体试验时与感病品种中的100ku蛋白专化性结合,但离体试验时,却与抗、感两类品种中的100ku蛋白都能结合。试验还发现了1种15ku的蛋白,存在于抗、感两类品种中,也都能与HV-毒素结合^[3]。以毒素与蛋白的偶联物为抗原制备多克隆抗体,利用Western blotting杂交技术和放射免疫标记技术,发现两种情况:(1)在活体内,毒素与抗、感两类品种中的100ku、45ku蛋白均结合;(2)在活体外,毒素除与抗、感品种中的100ku、45ku蛋白结合外,还可与65ku蛋白结合。由于65ku、45ku这两条带的宽度不稳定,推测它们由100ku蛋白衍生而来。体内试验同时表明,毒素与蛋白结合的程度在感病品种中要强于在抗病品种中,但并未找到证明毒素与蛋白特异性结合的证据^[4]。

Wolpert获得了感病品种具有受体蛋白的直接证据,认为毒素先与15ku的蛋白结合,再转移给100ku的蛋白,15ku的蛋白能促进100ku的蛋白与

毒素的结合。随后,他们应用免疫沉淀法翻译出100ku VBP的RNA,并制备出cDNA文库。用限制性蛋白水解酶进行多肽作图,表明该cDNA合成的蛋白就是100ku VBP。核苷酸序列分析表明,该cDNA与甘氨酸脱羧酶多酶复合体P蛋白的cDNA有很高的同源性,该酶是核基因编码的线粒体酶复合物。蛋白凝胶印迹分析表明,100ku VBP可与线粒体共纯化。因此认为100ku VBP是甘氨酸脱羧酶(GDC)的P蛋白组分^[5]。不久,Navarre和Wolpert又研究了毒素对甘氨酸脱羧酶多酶复合体活性的抑制作用,发现15ku VBP是GDC的H蛋白组分,45ku和65ku蛋白则与GDC的T蛋白和L蛋白分子量大致相同;HV-毒素可抑制活体内GDC的活性,抑制体外甘氨酸-碳酸氢盐的交换。研究者推测线粒体上的GDC是该毒素的原初作用位点,而且GDC可能是Vb基因的产物,即使不是也直接或间接影响毒素与之互作;GDC也可能只是Vb基因的产物,而不是原初作用位点。研究者还认为,HV-毒素进入线粒体可能需要一种载体蛋白^[6]。由于GDC是光呼吸作用中的关键因子,Navarre等发现弱光和高浓度 CO_2 可减轻HV-毒素诱导的病害症状的发展。这一结果为GDC是HV-毒素的作用位点提供了生理学证据^[7]。

1.3 玉米长蠕孢霉T小种毒素(HMT-toxin)

许多研究表明,HMT-毒素与典型的离子载体的作用方式相似。它的原初作用位点是线粒体,但质膜也直接受到影响,如HMT-毒素可使膜电位发生极化,并抑制T型玉米根部离子的吸收。HMT-毒素可抑制感病品种中 Ca^{2+} 传递进入线粒体,但对 Ca^{2+} 进入微粒体泡囊却没有作用,认为HMT-毒素的原初作用位点是感病品系线粒体膜,而不是微粒体膜(包括液泡膜、质膜)。

Bouthyette等研究了DCCD(二环己基碳二亚胺)对HMT-毒素的作用。DCCD可与毒素受体上位于疏水区段的酸性氨基酸残基结合,强烈抑制HMT-毒素诱导的线粒体的膨胀,表明DCCD可以阻断HMT-毒素与线粒体的结合,而且随DCCD浓度的增加抑制作用增加。但这种呈梯度增长的抑制作用发生在线粒体与DCCD共孵育后8h,表明DCCD不直接与HMT-毒素作用,而是与线粒体的某一成分作用以阻止HMT-毒素的作用。用 ^{14}C 标记DCCD后处理感病品种,发现DCCD作用于线粒体ATP酶复合物。所以认为,HMT-毒素与ATP酶复合物所在的T型品种线粒体内膜起作用。

遗传学研究表明,Cms-T玉米细胞质雄性不育以及它的感病性与1个线粒体基因T-*urf13*紧密相连。T-*urf13*基因能编码一种分子量为13ku的多肽(URF-13),它可以专化性地与HMT-毒素相结合,而N型、C型、S型玉米细胞质的线粒体中没有这种多肽。将T-*urf13*导入到*E. coli*中,再用HMT-毒素处理,发现HMT-毒素可以引起原生质球膨胀并抑制细菌的呼吸作用,表明*E. coli*对HMT-毒素高度敏感^[8]。2种T-*urf13*的突变体,对HMT-毒素不敏感。Brown等利用定点诱变方法确定了URF-13对毒素敏感的重要区域,发现DCCD与URF-13的2个天冬氨酸残基位点相结合,分别位于12位和39位,而且39位是HMT-毒素与URF-13作用所必需的。研究还发现编码毒素敏感性的DNA位于T-*urf13*基因的3'端到26SrRNA基因编码区。进一步研究表明,URF-13是一个整合膜蛋白。URF-13与HMT-毒素以一种特殊的方式专化性的结合,它们的相互作用导致了亲水孔道的形成,该孔道使线粒体内膜发生渗透。URF-13包含3个横跨膜的 α 螺旋,其中2个具亲水脂性(amphipathic),可能与孔道形成有关,在Cms-T玉米线粒体和*E. coli*细胞中表达时,形成寡聚物。URF-13四聚体含有一个中心部分可组成一个4 α 螺旋束,该螺旋束在与毒素结合以后,可能发生结构上的变化^[9]。

1.4 玉米圆斑病菌毒素(HC-toxin)

早期人们用¹⁴C标记的HC-毒素,处理感病玉米细胞,发现在核蛋白、线粒体、叶绿体和核中都有¹⁴C的存在,因而未能确定HC-毒素的作用位点。虽然HC-毒素可刺激呼吸作用和CO₂暗固定等,但这些作用均发生在毒素处理后8~10h,推测这是该毒素的次级作用,即线粒体和叶绿体上无HC-毒素的原初作用位点^[2]。后来发现HC-毒素可改变感病品种质膜的透性,处理后几分钟即引起负电势的增加,推测该毒素的作用位点可能是在细胞质膜上。

HC-毒素可抑制活体外玉米组蛋白脱乙酰酶(HD)活性,但并不影响组蛋白乙酰转移酶的活性,同时还抑制部分纯化的HDI-A、HDI-B、HD活性。用2-巯基乙醇处理毒素后,毒素的环氧化物基团被水解,抑制作用可消除。体内试验表明,HC-毒素处理玉米胚之后,引起高度乙酰化的组蛋白H4亚种的积累,并可促使醋酸盐进入感病基因型玉米胚的H4中。小鸡和粘菌*phlysarum polycephalum*中的HDs也可被HC-毒素抑制,表明HC-毒素的寄主选

择性不能由它对HD的抑制性而决定,认为HC-毒素通过干扰可逆的组蛋白乙酰化而促使*C. carbonum*和玉米之间的致病相容性的建立,推测HD是HC-毒素的原初作用位点^[14]。HC-毒素使玉米胚和组织培养物积累核心组蛋白H3和H4的超乙酰化形式。组蛋白的超乙酰化以一种寄主选择性方式发生,仅仅在Pr玉米(基因型为*hm/hm*)中存在,而对于Pr1玉米(基因型为*Hm/Hm*)则不发生该现象。研究结果支持以前的推测,即HD是HC-毒素的作用位点^[11]。

1.5 Ophiobolin A毒素

人们用Ophiobolin A处理钙调素(CaM)时发现CaM的酪氨酸荧光熄灭,这种熄灭现象是与CaM活性的丧失相联系的,暗示在CaM与毒素之间发生直接结合。随后的研究又表明,Ophiobolin A毒素的作用与CaM受抑制作用有关,当用Ophiobolin A处理玉米根部时,根部提取物中仅存在极少量有活性的CaM,表明Ophiobolin A可能在体内抑制了CaM,即Ophiobolin A与CaM发生了共价结合。

Leung等研究推测,CaM中的Lys残基上的 ϵ -氨基与Ophiobolin A发生反应,但并未找到确切的位置。随后,Au和Leung利用定点诱变技术确定了Ophiobolin A在CaM分子中的结合位点。3个Lys残基中的任何一个都可与Ophiobolin A结合。正常情况下,仅仅Lys-75和Lys-148与Ophiobolin A结合,Lys-75与Ophiobolin A的结合阻止了Lys-77与Ophiobolin A的结合,使Lys-77成为隐藏位点,这可能是由于Lys-75和Lys-77非常接近。Lys-75是主要的结合位点,对于Ophiobolin A的抑制能起重要作用。当Lys-75被去掉后,Lys-77可与Ophiobolin A作用发生抑制反应。Lys-148是一个结合位点而不是抑制位点,Lys-75的突变体对Ophiobolin A有部分抗性。当Lys-75和Lys-77或者3个Lys残基都被突变后,CaM对Ophiobolin A有很强的抗性。为了验证CaM是否还有其它位点与Ophiobolin A结合,研究者将植物中特有的Lys残基Lys-86和Lys-143引入到突变体后发现,这些残基对于Ophiobolin A的抑制和结合活性没有影响,表明它们不与Ophiobolin A作用,即Lys-86和Lys-143不是Ophiobolin A的作用位点^[12]。

本实验室目前已分离出玉米大斑病菌毒素的特异性组分,正在通过静脉注射新西兰白兔制备特异性抗体,其它的研究也在深入进行。

2 链格孢毒素的结合蛋白

2.1 菊池链格孢毒素(AK-toxin)

大量试验证明,AK-毒素最初的作用位点是质膜。Kohmoto等建立了一种AK-毒素对感病日本梨品种的作用体系,表明AK-毒素的结合蛋白是一种含-SH的蛋白,提出在细胞膜上具有结合位点^[13]。用AK-毒素处理感病梨后,膜透性改变,电解质外渗,抑制细胞mRNA和蛋白质的新合成,使细胞中Cu²⁺和Fe³⁺的含量增加,导致质膜凹陷,最后使梨叶脉坏死。用-SH修饰剂处理感病梨叶片后,AK-毒素对质膜的作用受到抑制^[14]。

2.2 苹果斑点落叶病菌毒素(AM-toxin)

Park等用AM I毒素处理苹果叶片,研究其超微结构的变化,表明AM I毒素的作用位点可能有2个:一是质膜-细胞壁连接处,主要在胞间连丝附近,表现在感病品种叶片以及中度抗病品种的花瓣细胞;另一个是感病品种细胞的叶绿体。电子显微放射自显影的观察结果也支持上述结论,即在上述部位有较多的银粒沉淀。试验还发现,AM I毒素能引起Nijisseiki梨叶片坏死和质膜变化,但并不影响该种梨的花瓣细胞,在该寄主上的作用位点可能只位于质膜-细胞壁的连接处^[15]。AM I对感病品种超微结构的影响,进而引发其它过程。由于绿色组织和非绿色组织对毒素的敏感性不同,Shimomura等推测叶绿体在毒素与质膜识别后的致病进程中有信号传导作用。

3 其它真菌毒素的结合蛋白

3.1 壳梭孢毒素(Fusicoccin, FC-toxin)

多数研究认为,FC毒素的作用位点为质膜,质膜实际上是ATP酶离子运输复合体。人们利用亲和层析技术、金属螯合亲和层析和阴离子交换层析技术分别纯化了FC毒素结合蛋白(FCBP)。结果表明为2种多肽,分子量分别为30ku和31ku,而且在67ku处偶尔也出现1条带。Meyer等利用³H标记Fcol(FC的一种衍生物),发现该毒素的作用位点具有热不稳定性,而且可以被蛋白酶降解,从而表明该毒素的作用位点为蛋白。SDS-PAGE分析表明,在34±1ku处有1个标记带^[16]。Feyerabend和Weiler将完整FCBP-FC放射性配体复合物溶解后共纯化,利用FC毒素的叠氮类似物进行光亲和标记,认为FCBP是1个34~35ku的多肽^[17]。Stout凝胶渗透柱分析表明,FCBP分子量大约为80ku。

根据以上结论,认为FCBP是1个寡聚体复合物,分子量为80ku,其中包括上述试验得到的30~35ku的毒素结合多肽。

Hepler和Gilman研究认为FC可能通过1个信号传导途径影响H⁺-ATP酶,该途径中包括磷脂酶A₂(PLA₂)和蛋白激酶C(PKC),而PLA₂和PKC是有活性的GTP结合蛋白(G蛋白)的效应子,G蛋白则在调控配体-受体的反应中,以及效应蛋白的结合活性方面起着重要作用。De Boer等研究也认为,FCBP是1信号传导链的一个组成部分,位于GTP结合蛋白的下游。Klitson等研究发现FC可诱导rRNA基因的活化,可能与FC受体属于GF14蛋白并有一个细胞内结合位点有关,也可能与FC诱导基因转录有关^[18]。

3.2 轮枝孢毒素(VD-toxin)

以根部、下胚轴、子叶的质膜与¹²⁵I标记的VD毒素进行试验,发现3处的质膜均与标记毒素结合,但根部质膜表现出最高的结合力,其它2处的结合力是根部的一半,且结合的最适pH为6.5~8.0,最适温度为30℃^[19]。Dubery和Meyer研究表明,毒素对抗病品种和感病品种没有选择性,但在棉花抗病品种的原生质体上毒素的结合位点比感病品种上多4.5倍,在抗病品种的原生质膜上的毒素结合位点比感病品种多16倍。这说明毒素可能在寄主与病原物互作的防卫反应的识别与信号传导过程中起作用。但也有研究表明,VD毒素可专化性作用于马铃薯,在抗病和感病品种中引起不同的反应^[20]。

3.3 DOTH毒素

Jones等以DOTH蛋白的偶连物为抗原,制备单克隆抗体,利用免疫金-银标记和荧光标记,通过电镜观察发现,DOTH与松树胚芽细胞中的小泡囊结合。免疫印迹分析表明,毒素与分子量为40ku的多肽特异性结合^[21]。随后,他们又制备出DOTH-MSA(鼠血清白蛋白)偶连物的抗独特型抗体,利用相同的方法,发现该抗体与受体蛋白的结合部位在胚芽细胞的小泡囊处,免疫印迹分析结果也很相似,在40ku处有1条主要带,但在43ku、23ku处也出现2条比较弱的带^[22]。

4 植物病原菌毒素结合蛋白研究中的几个注意点

4.1 寻找有效的受体探针

在毒素结合蛋白研究中,比较经典的方法有2

种,即同位素标记和免疫标记。起初,人们主要采用同位素标记法,但发现在毒素与受体结合后无法分清多少个结合点,不易说明受体位点的正确性,使得很长一段时间进展不快。免疫学技术的运用促进了 TBP 的研究,人们利用各种形式的抗体来研究受体蛋白。现在普遍认为抗独特型抗体是比较有效的受体探针。

Jerne 提出了独特型抗体(idiotypic antibody)和抗独特型抗体(anti-idiotypic)相互作用的“免疫网络调节学说”。抗原(Ag)免疫动物所产生的抗体(Ab₁)的 Fab 可变区,不仅特异性的识别 Ag 分子的某一个或几个表位,而且其本身也是抗原决定基(称为独特型,Id),为体内的免疫活性细胞所识别而产生抗体(Ab₂),称为抗独特型抗体(抗 Id)。抗 Id 和 Ag 表位的结构相似,是 Ag 表位的分子模拟,成为 Ag 的内影像(internal image)。由于抗 Id 抗体绕过了纯化受体这一困难,因此,已被大量应用于植物激素受体和动物细胞受体研究中,现在也逐步应用于植物毒素受体研究中。但是,抗 Id 抗体也有它无法克服的缺点,即:由于抗 Id 抗体分子量比较大,无法进入细胞内部,因此,它只能用作细胞表面受体功能和生化研究的探针。提倡应用同位素标记和免疫标记 2 种方法来研究毒素结合蛋白。

4.2 受体的分离纯化

受体纯化是揭示受体本质和特异性的重要手段,但得到纯化的受体非常困难。这是因为:(1)受体在组织中的含量极微,提纯有一定难度;(2)受体很容易失活,一旦失活,结合的标记配体很快就解离,无法跟踪受体分子的去向。近年来,抗受体抗体(尤其是单抗)的问世,给受体纯化开辟了新的途径。

4.3 受体的亲和标记

在研究壳梭孢毒素时发现,很难得到高纯度且较大量的结合蛋白,而且 FCBP-配体复合物稳定性很强,但被溶解的 FCBP 由于失去了配体非常容易变性。因此研究者利用了亲和标记技术,以确定受体的理化性质。这也是在研究其它毒素结合蛋白时应注意的。

4.4 受体分子的结构与功能研究

单抗能特异性地识别抗原大分子上的微小表位,因此特别适于发现受体分子的微小差别。用胶体金标记单抗,可用电镜免疫组化法对膜受体的不同表位进行定位,如 Lindstron 用多种识别动物 N-AchR α 亚单位的金标单抗,绘出了 N 端在细胞外、C 端在细胞内有 5 个跨膜段的模型。

分子生物学方法不仅能明确受体的一级结构,而且还可进一步阐明受体结构与功能之间的相互关系,常用的是分子克隆、核酸序列分析、定点突变等技术。

5 研究的意义

毒素的作用位点和受体蛋白的研究是阐明寄主与病原识别的关键。每一种受体都含有相应独立的功能域。膜受体包括膜外部分、跨膜部分和细胞内部分。毒素与膜外受体结合后,依次活化膜上的其它活性成分,导致膜结构的变化,进而影响细胞内、外电解质的平衡,造成细胞死亡。也可能毒素与膜外受体结合以后,不立即发生作用而通过另一种通道进入到细胞内部,从而引发生理生化反应。同时还伴随细胞内外的信息传递,如活性氧(AO)的积累与代谢等,这些影响又与植物的抗病性密切相关。受体蛋白的研究同时也会促进对感病、抗病寄主差异性的研究,加深对寄主选择性毒素和寄主非选择性毒素的认识。通过对侵染后不同时期的作用位点进行跟踪检测,也可从微观上了解病害发生的过程,如镰刀菌毒素(DON、ADON)^[23]。

6 展望

随着毒素受体研究的不断深入,已经明确了许多毒素,尤其是寄主选择性毒素的作用位点和结合蛋白。在以后的研究中应侧重于结合蛋白功能方面的研究与应用。可通过蛋白序列检测推测控制该蛋白的基因,一方面与毒素的钝化研究相联系,另一方面与毒素的产生遗传相联系,而这些最终又都与病害防治相联系。

References

- [1] Strobel G A. The helminthosporoside-binding protein of sugarcane. *The Journal of Biological Chemistry*, 1973, 248: 1 321 - 1 328.
- [2] Dong J G, Li S Z. *Advance on Plant Pathotoxins*. Beijing: China Science and Technology Press, 1997. (in Chinese)
董金泉,李树正.植物病原真菌毒素研究进展.北京:中国科学技术出版社,1997.
- [3] Wolpert T J, Macko V. Specific binding of victorin to a 100-KDa protein from oats. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86(11): 4 092 - 4 096.
- [4] Akimitsu K, Hart L P, Walton J D, Hollingsworth R. Covalent binding sites of victorin in oat leaf tissue detected by anti-victorin polyclonal antibodies. *Plant Physiology*, 1992, 98(1): 121 - 126.

- [5] Wolpert T J, Navarre D A, Moore D L, Macko V. Identification of the 100-Kd victorin binding protein from oats. *Plant Cell*, 1994, 6(8) :1 145 - 1 155 .
- [6] Navarre D A, Wolpert T J. Inhibition of the glycine decarboxylase multienzyme complex by the host-selective toxin victorin. *Plant Cell*, 1995, 7(4) :463 - 471 .
- [7] Navarre D A, Wolpert T J. Effect of light and CO₂ on victorin-induced symptom development in oats. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1999, 55(4) :237 - 242 .
- [8] Dewey R E, Siedow J N, Timothy D H, Leving III C S. A 13-kilodalton maize mitochondrial protein in *E. coli* confers sensitivity to *Bipolaris maydis* toxin. *Science*, 1988, 239(4837) :293 - 295 .
- [9] Rhoads D M, Griffin H C, Neuenschwander B B. Assays for characterizing URF-13, the pathotoxin and methomyl receptor of Cms-T maize. *Methods in Enzymology*, 1996, 264:566 - 581 .
- [10] Brosch G, Ransom R, Lechner T, Walton J D, Loidl P. Inhibition of maize histone deacetylases by HC toxin, the host-selective toxin of *Cochliobolus carbonum*. *Plant Cell*, 1995, 7(11) :1 941 - 1 950 .
- [11] Ransom R F, Walton J D. Histone hyperacetylation in maize in response to treatment with HC-toxin or infection by the filamentous fungus *Cochliobolus carbonum*. *Plant Physiology*, 1997, 115(3) :1 021 - 1 027 .
- [12] Au T K, Leung P K. Identification of the binding and inhibition sites in the calmodulin molecule for Ophiobolin A by site-directed mutagenesis. *Plant Physiology*, 1998, 118(3) :965 - 973 .
- [13] Kohmoto K. Recent advance in studies of host-specific toxins with specific resistance to *Alternaria* toxin. *Korean J. Plant Pathol.* 1987, 3(4) :43 - 53 .
- [14] Otani H, Nishimura S, Kohmoto K. Effect of AK-toxin produced by *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype on membrane potential of pear cell. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 1989, 55 :466 - 468 .
- [15] Park P, Nishimura S, Kohmoto K, Otani H, Tsujimoto K. Two action sites of AM-toxin I produced by apple pathotype of *Alternaria alternata* in host cells: an ultrastructural study. *Canadian Journal of Botany*, 1981, 59(3) :301 - 310 .
- [16] Meyer C, Feyerabend M, Weiler W. Fusicoccin-binding proteins in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Physiology*, 1989, 89(2) :692 - 699 .
- [17] Feyerabend M, Weiler E W. Photoaffinity labeling and partial purification of the putative plant receptor for the fungal wilt-inducing toxin, fusicoccin. *Planta*, 1989, 178(3) :282 - 290 .
- [18] Klitsov S V, Artem'eva G, Lazareva E, Muromtsev G S. The effect of fusicoccin on the common wheat genome. *Genetika (Moskva)*, 2000, 36(8) :1 071 - 1 080 .
- [19] Meyer R, Dubery I A. High-affinity binding of a protein-lipopolysaccharide phytotoxin from *Verticillium dahliae* to cotton membranes. *FEBS Letters*, 1993, 335(2) :203 - 206 .
- [20] Dubery I A, Meyer R. Specific binding of a *Verticillium dahliae* phytotoxin to protoplasts of cotton, *Gossypium hirsutum*. *Plant Cell Reports*, 1996, 5(10) :777 - 780 .
- [21] Jones W T, Harvey D, Jones S D, Sutherland P W, Nicol M J, Sergejew N, Debnam P M, Cranshaw N, Reynolds P H S. Interaction between the phytotoxin Dothistromin and *Pinus radiata* embryos. *Phytopathology*, 1995, 85(10) :1 099 - 1 104 .
- [22] Jones W T, Harvey D, Sutherland P W, Reynolds P H S. Production of anti-idiotypic monoclonal antibodies that mimic the phytotoxin Dothistromin. *Food and Agricultural Immunology*, 1998, 10(1) :67 - 78 .
- [23] Kang Z, Buchenauer H. Ultrastructural and immunocytochemical investigation of pathogen development and host response in resistant and susceptible wheat spikes infected by *Fusarium culmorum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2000, 57 :255 - 268 .