

病原中的活性氧释放研究进展

李 欣, 李红玉*

(兰州大学生命科学学院, 兰州 730000)

摘要:活性氧的释放在动植物-病原菌互作过程中有着非常重要的作用。一般认为互作中的活性氧来源于动植物细胞生物膜中的氧化还原体系。但近年来随着互作研究的深入,发现动植物病原菌自身也有活性氧的释放以及复杂的调控系统,它们的活性氧释放能力很有可能与其致病性有一定的联系,并可能参与了互作,这些发现对深入了解动植物-病原菌的互作机制具有重要意义。概述了在细菌、真菌等多种动物病原菌中存在的活性氧释放现象,这些微生物活性氧产生的位点、相关功能分子以及调控机制,介绍了目前研究仍然较少但其潜在意义重大的植物病原菌中的活性氧释放现象、可能的调节机制和病理学意义。

关键词:病原;活性氧;线粒体;致病性

文章编号:1000-0933(2006)07-2382-05 中图分类号:S432.1 文献标识码:A

Research progress on active oxygen species in pathogens

LI Xin, LI Hong-Yu* (School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(7): 2382–2386.

Abstract: Active oxygen species (AOS) play important roles in the interaction between host and pathogen. Though it was long considered that AOS released in the interaction between host and pathogen was primarily mediated by a membrane-bound redox complex in host, further, present studies showed that AOS, which had potential relation to pathogenicity of pathogen, was also detected in pathogen and took part in the interaction. AOS production was regulated by complicated mechanisms in pathogen. These findings provide potentially important clues in discovering the mechanism of host-pathogen interaction. In general, this review describes the ubiquitous phenomenon of AOS generation in many pathogens, including bacteria and fungi. The AOS regulatory mechanism, such as releasing sites and functional molecules, was demonstrated. AOS generation in plant pathogen is significant even though further studies are needed. The discussion was also made on the phenomenon, likely regulatory mechanism and the pathological significance of AOS generation in plant pathogens.

Key words: pathogen; active oxygen species; mitochondria; pathogenicity

活性氧(AOS)包括超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基($\cdot OH$)以及单线态氧(1O_2)等,是细胞新陈代谢的产物。在动植物-病原菌的相互作用中,活性氧具有重要的意义^[1,2]。一般认为,质膜结合的NAD(P)H氧化还原酶是互作活性氧产生的主要来源^[2]。后来在动物-病原菌的相互作用中陆续发现:动物病原本身也释放活性氧,这些活性氧不但参与了互作过程,而且在互作过程中发挥着重要作用^[3,4]。近年来在植物-病原菌的相互作用中也陆续发现植物病原菌本身也存在活性氧释放现象^[5,6]。并且植物病原菌中活性氧的释放也很可能与它们的致病性存在一定的联系^[7,8]。

近年来,病原中活性氧的释放现象引起了国际微生物学家及动植物病理学家的密切关注。有关病原微生物活性氧释放的来源、特性、代谢规律及其在互作中的病理学意义的研究取得了长足的进展。这些问题的阐

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170238)

收稿日期:2005-03-09;修订日期:2005-11-10

作者简介:李欣(1979-),女,河北邯郸人,博士生,主要从事为分子植物病理学研究。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lihy@lzu.edu.cn

Foundation item: The project was supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30170238)

Received date: 2005-03-09; Accepted date: 2005-11-10

Biography: LI Xin, Ph. D. candidate, mainly engaged in molecular plant pathology. E-mail: lixin2004@st.lzu.edu.cn

明不但有助于深入了解病原菌细胞的生理机制以及侵染寄主的致病机理,而且是对寄主-病原菌互作理论的重要补充。本文对这些研究加以综述,以有助于对寄主-病原这一共生生态系统中的生物互作研究的进一步开展。

1 动物病原菌中的活性氧释放及其调控

1.1 真核病原菌中的活性氧

动物细胞中,线粒体是细胞活性氧释放的主要来源^[9,10]。真核病原细胞与动植物相同,具有重要细胞器-线粒体,而线粒体的呼吸电子传递链在酵母等真核病原中的活性氧释放也具有重要的作用^[11]。Guo 等在酵母中的研究显示细胞膜的电子传递链也是真菌细胞中活性氧产生的重要位点。琥珀酸脱氢酶(SQR)的两个突变体能够促进琥珀酸盐-辅酶 Q 氧化还原酶的 O_2^- 产生。它们的突变位点非常接近辅酶 Q 的结合位点,显示 O_2^- 可能来源于催化性循环中泛半醌中间体(SDH Qp)位点^[12]。

1.2 原核病原菌中的活性氧

原核的病原细胞中虽然没有动物细胞中的重要细胞器——线粒体,但是病原菌细胞中的生物膜-细胞膜在活性氧的释放中起到重要的作用。病原根据细胞中的生理状态调控相关膜结合的氧化还原酶的表达,并对活性氧的释放种类及量进行调节。细胞中生物膜的氧化还原系统仍然是细胞中活性氧释放的主要来源^[13,14]。

细菌的呼吸脱氢酶也是 O_2^- 和 H_2O_2 的重要来源^[15]。鸟类支原菌菌株中的研究表明,细胞中 H_2O_2 释放也是由细胞中的生物膜——细胞膜介导,而且 H_2O_2 的释放与膜结合的 NADH 氧化酶的高活性相关^[16]。兼性厌氧菌变形链球菌在有氧条件下,产生 O_2^- 、 $\cdot OH$ 和 H_2O_2 等代谢产物。不同的链球菌产生活性氧的能力有很大不同,实验所用的变形链球菌族(从血清型 a-g)的所有细菌均可代谢氧产生 H_2O_2 ,只有少数菌株(HS-6 和 AHT)可以产生 O_2^- 。这种差异可能与胞内的 NADH 氧化酶有关,变形链球菌具有两种 NADH 氧化酶,一种催化产生 O_2^- ,另一种催化产生 H_2O_2 。氧及其代谢产物对糖的代谢及菌斑微生态具有重要作用^[17]。

对原核病原菌大肠杆菌中活性氧的释放已经进行了广泛深入的系统性研究。大肠杆菌的 O_2^- 释放位点是在胞内,不仅胞质中的氧化还原酶能够释放活性氧,细胞膜结合的多种氧化还原酶在病原菌活性氧的释放中起到重要的作用。研究显示,大肠杆菌胞内大部分 O_2^- 是由呼吸的电子传递链组分自氧化产生的^[13]。在细胞膜的多个位点均有活性氧释放的活性,细胞膜 Qp 位点的泛半醌中间体可能参与了 $\cdot OH$ 的产生。此外,还原型的延胡索酸还原酶(QFR)在 FAD 位点自氧化产生高水平的活性氧,细胞膜上的 FAD 位点也很可能是病原菌活性氧释放的重要位点^[14]。

大肠杆菌胞内通过生物膜电子传递链以及多种氧化还原酶系调控活性氧的释放,并在需氧、厌氧的不同生理条件下由不同的酶系实现活性氧释放及调控的功能^[14]。NADH 脱氢酶 II、琥珀酸脱氢酶(SQR)、亚硫酸还原酶以及延胡索酸还原酶(QFR)都能够分别产生 O_2^- 和 H_2O_2 。研究证明了体外这些酶中 QFR 能够优先快速产生 O_2^- ^[18]。QFR 和 SQR 的活性及功能受到生理条件的调节。有氧环境下,由还原型的 QFR 产生包括 O_2^- 和 H_2O_2 的大量的活性氧。与此形成鲜明对比的是,厌氧条件下 SQR 具有高电势簇,专一产生适量的 O_2^- ^[7,19]。QFR 产生的 O_2^- 相当于 SQR 释放 O_2^- 的 25 倍。而胞内 QFR 的产物主要取决于氧浓度, O_2^- 的产生是反应的限速步骤。酶的还原程度能够影响释放的主要产物是 O_2^- 还是 H_2O_2 ^[14,19]。同样在胞内检测到活性氧释放的酵母^[12]等病原菌也是由胞内氧化还原酶系调控活性氧的释放。

与大肠杆菌主要由定位于细胞膜上的氧化还原酶产生胞内 O_2^- 的机理不同,粪肠球菌产生 O_2^- 的位点是胞外,在菌膜上的 NADH 及 L-乳酸位点发现了 O_2^- 的产生。虽然菌膜上没有细胞膜那么复杂的氧化还原酶系,粪肠球菌仍然具有类似的呼吸途径^[20]。研究结果显示粪肠球菌产生的胞外 O_2^- 很可能是通过呼吸链由脱甲基的维生素 K₂ 半醌自由基与氧之间的快速非酶反应产生的,并且延胡索酸还原酶等氧化还原酶并不参与调控 O_2^- 的释放。粪肠球菌 O_2^- 的释放量约是大肠杆菌的 1000 倍。因此,多种不同微生物的 O_2^- 释放可能具有复杂的调控机制,使正常细胞内的 O_2^- 维持在不同的水平,很可能一定数量的 O_2^- 对维持细胞正常生理功

能具有重要作用,不同病原胞内正常环境需要的 O_2^- 水平可能具有很大的差异^[3]。

比较大肠杆菌和肠球菌等病原菌的活性氧释放及可能机理,包括大肠杆菌,链球菌,肠球菌等所有的原核病原菌的活性氧释放中,细胞生物膜的氧化还原体系都参与了细胞的活性氧释放^[14,19]。但是,不同病原的 O_2^- 释放位点及来源存在极大的不同,并且根据病原菌种属或生理条件的不同,选择酶途径或者非酶途径实现释放的功能。大肠杆菌及粪肠球菌等病原菌中均已检测到 H_2O_2 的产生^[14,21]。但是与 O_2^- 释放机理的较深入研究相比,病原菌中 H_2O_2 的产生机理研究仍然较少。 H_2O_2 等其他活性氧是否具有类似的调控机制的差异有待进一步的研究。

动植物细胞中的研究已经发现,和病原菌互作时,动植物细胞会产生大量的活性氧,对外界病原的侵入有重要的防御作用。但是后来研究发现, H_2O_2 及 O_2^- 等活性氧分子具有信号传导的作用, H_2O_2 更是一种第二信使分子。正常的细胞中也具有活性氧的释放现象,并有复杂的调控系统将其维持在较低的稳定水平,活性氧对正常细胞的生理功能是不可或缺的。病原菌中,也发现了类似的现象。正常病原菌细胞也具有一定的活性氧释放能力,并且受到胞内活性氧释放系统及清除活性氧的抗氧化系统的调节^[22]。对大肠杆菌的研究显示, O_2^- 与胞内重要的抗氧化酶 SOD,两者之间能够相互调控,胞内 O_2^- 一般维持 2×10^{-10} mol/L 的稳定水平^[13,23]。最近在植物病原菌白叶枯病菌中的研究发现,病原菌对自身的 O_2^- 释放具有很强的调节作用,并且胞内对 O_2^- 的调控很可能具有除 SOD 之外的抗氧化机制,而使胞内具有稳定的 O_2^- 水平^[24]。

2 植物病原菌中的活性氧释放及其调控

与动物-病原互作系统类似,植物病原细菌、真菌等病原物侵染植物时,不但植物释放活性氧,植物病原菌也释放活性氧^[5,6]。互作过程中的活性氧释放及其机理一直是植物病理生理研究的重要领域。初步的研究结果显示,在植物病原菌中不仅有与动物病原菌相同的 NADPH 氧化酶等在活性氧释放中起到重要的作用,还有一些植物病原菌特有的氧化还原酶系(比如糖氧化酶)也参与了真菌中的活性氧释放。寄主植物和侵染的真菌病原都能够产生活性氧,很难辨别活性氧的实际来源^[6]。植物与病原菌互作发生时产生的活性氧可能是互作双方活性氧释放的综合结果^[7,25]。这类问题的提出将有助于从一个全新的角度去理解植物病原细菌的致病机理以及植物-病原菌相互作用的机理。

2.1 植物病原真菌中的活性氧

坏死营养型真菌灰葡萄孢病菌侵染植物的过程中,侵入细胞壁时及后来的植物组织坏死时互作体系中的活性氧不断增强,因此,为了避免真菌胞质与外源活性氧突然接触时受到损伤,坏死营养型真菌自身也产生活性氧以适应互作体系中高活性氧的环境。穿过细胞表面的细胞壁后,真菌分泌的酶能够直接产生额外的 H_2O_2 ^[25],这些 H_2O_2 会被释放在细胞壁内及其周围^[8]。有研究指出,在穿刺的过程中互作体系中产生的大量 H_2O_2 ,大部分可能是来源于真菌病原^[6]。

真菌自身的活性氧产生有多种机制^[7]。精确的机制很大程度上依赖于真菌的营养型。清除或利用 H_2O_2 的不同酶的水平也受到真菌生长条件的影响。与动物病原菌一样,植物病原菌中的活性氧释放具有多种来源,NADPH 氧化酶等膜结合的氧化还原酶在活性氧的释放中都起到重要的作用^[6,8]。NAD(P)H 氧化酶能够催化普遍认为的活性氧生成反应,这些活性氧是线粒体电子传递和黄素脱氢酶反应的副产物^[6]。构巢曲霉中 NADPH 氧化酶也参与了活性氧的产生^[26]。除此之外,植物病原真菌中已经显示了胞外 H_2O_2 的几个潜在来源,SOD 和糖氧化酶都对 H_2O_2 的释放有重要作用^[8]。病原真菌中糖氧化酶也是活性氧释放的功能酶。真菌通常含有的多种糖氧化酶的活化都会导致 H_2O_2 的形成。一个最主要的糖氧化酶是葡萄糖氧化酶。在许多真菌中都存在含 FAD 蛋白的葡萄糖氧化酶,能够催化葡萄糖转化为 δ -葡萄糖酸内酯和 H_2O_2 ^[6]。

2.2 植物病原细菌中的活性氧

王金生等在水稻与白叶枯病原菌的互作研究中发现,植物病原细菌自身也能释放 O_2^- 和 H_2O_2 等活性氧,并且其释放受到 NADPH、 Ca^{2+} 及水稻组分的调节^[5]。本实验室进一步的实验显示,不仅植物的活性氧释放存

在多个位点^[27],植物病原细菌自身的活性氧释放位点也不是单一的。化学法和电子顺磁共振法(ESR)对病原菌各亚细胞组分的 O_2^- 释放的检测结果显示,在细胞膜、细胞壁以及无菌滤液中都有活性氧的释放,无菌滤液中的 O_2^- 释放最强。由于 O_2^- 的寿命非常短,很可能无菌滤液中就存在 O_2^- 释放的功能分子^[24]。

3 病原活性氧释放的病理学意义

活性氧各分子间不仅能够相互转化也存在着一定的平衡^[2]。 O_2^- 的产生要求微量的能量输入。活体中, O_2^- 与它的质子化的形式,过氧羟自由基($\cdot O_2H$)存在着平衡。 $\cdot OH$ 比 O_2^- 具有更强的疏水性,并且能够更容易插入膜的脂质双分子层。在产生 O_2^- 的系统中也必然产生一定量的 H_2O_2 。 H_2O_2 是相对稳定的活性氧。由于不活跃及电中性, H_2O_2 能够穿越细胞膜并且从遥远的形成位点到达细胞作用位点。 $\cdot OH$ 是活性氧中最活跃的,能够由 H_2O_2 和 O_2^- 直接反应生成(Haber-Weiss 反应),也能够氧化 Fe^{2+} 或 Cu^+ 等过渡金属元素循环反应中直接产生(Fenton 反应),而这些氧化态的离子能够与 O_2^- 反应重新恢复还原态^[28]。

细胞释放的活性氧是分子氧单电子还原反应的不可避免的产物^[2],受到胞内复杂调控系统的调节,是细胞正常生理状态不可缺少的分子,在细胞信号传导、氧感应和炎症反应中具有重要作用, O_2^- 和 H_2O_2 可以作为胞内的信号分子^[3, 28, 29]。但是,有氧环境中不能清除内生 O_2^- 和 H_2O_2 的突变体生长困难或者死亡,说明这些在胞内产生的活性氧对细胞具有潜在的毒性^[30]。活性氧浓度过高,更会造成病原菌自身细胞膜,基因组等大分子的损伤^[3, 19, 22, 28, 29]。具有毒性以及信号传导中的积极作用的活性氧分子在细胞中具有双重的重要生理意义。

动植物-病原菌互作中,病原菌释放大量与其致病性相关的活性氧分子^[8, 19]。互作系统中的活性氧释放水平也因病原菌的活性氧释放水平不同而有明显差异,显示病原释放的活性氧在互作系统中起到重要的作用^[4]。

最先尝试对病原菌活性氧及其致病性的联系进行研究是在动物病原菌中。Huycke 等发现多种肠球菌能够产生胞外 O_2^- 。对能够释放胞外 O_2^- 菌株类型分析显示,侵染力与胞外 O_2^- 的产生有一定的联系,可能胞外 O_2^- 是潜在的毒性因子^[20]。对肺炎支原体、肺炎链球菌、绿脓肺炎球菌的研究已经显示出它们产生的活性氧是毒性因子^[31, 32, 33]。为了分析胞外 O_2^- 在致病性中的作用,Huycke 等从病人血液及健康人粪便中分离出粪球菌。与菌血症相关的粪球菌产生的 O_2^- 比粪便中得到的菌株强 60%^[20]。一方面可能是菌血症的致病菌比无毒菌株的 O_2^- 释放能力强,肠球菌的 O_2^- 释放能力与其侵染力有一定的联系;另一方面可能是致病菌在与寄主互作的过程中,既导致寄主发病,自身的 O_2^- 释放能力又受到互作过程的影响,有大幅度的增强。具体的机制还不清楚,这些研究结果为活性氧与菌株的致病性之间可能存在的联系提供了初步的证据,并暗示了病原释放的活性氧可能在互作中起到了重要的作用。

对于植物病原菌自身活性氧释放的病理学意义,这方面的研究很少。Von Tiedemann 等曾在大豆叶片悬浮细胞中观察到与病原的致病性成比例的 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 的产生,他们推测这些 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 来自于病原菌并且在植物病程发展过程中扮演了重要的角色。进一步的研究证明了植物病原菌——6 种灰葡萄孢病菌的侵染能力与其自身产生的 H_2O_2 等活性氧相联系^[8]。坏死营养型病原也利用氧化胁迫进攻、侵占及破坏植物组织,显示了病原菌活性氧在灰葡萄孢病菌诱导的寄主植物细胞凋亡中的重要作用^[7]。灰葡萄孢病菌的毒性菌株都能够产生一种毒素,它的分解释放出 H_2O_2 ,不能合成这种毒素的突变体菌株致病性显著降低。显示了与毒素直接相关的活性氧释放与菌株致病性的联系^[8]。在植物病原细菌白叶枯病菌中的研究结果也显示,即使菌株种属相同,致病性不同的病原细菌 O_2^- 的释放能力有明显的差异,在与寄主的互作过程中,致病性不同的菌株受到不同的影响。

目前还有许多人们感兴趣的问题有待于进一步研究。比如:有关微生物活性氧释放调控相关分子的研究都是通过酶及相关基因的突变体对活性氧的影响等方法侧面进行的,没有得到直接分离提纯的功能分子。多方面的证据显示了病原致病与活性氧释放之间有密切联系,但是病原的致病机制并不清楚。此外,互作系统中病原的活性氧释放作用方式和途径以及对互作系统的影响还不清楚,等等。

References:

- [1] Wang P F, Kang J H, Zheng R L, *et al.* Scavenging Effects of Phenylpropanoid Glycosides from *Pedicularis* on Superoxide Anion and Hydroxyl Radical by the Spin Trapping Method (95) 02255-4. *Biochemical Pharmacology*, 1996, 51: 687 ~ 691.
- [2] Wojtaszek P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.*, 1997, 322: 681 ~ 692.
- [3] Huycke M M, Moore R D, Joyce W, *et al.* Extracellular superoxide production by *Enterococcus faecalis* requires demethylmenaquinone and is attenuated by functional terminal quinol oxidases. *Molecular Microbiology*, 2001, 42(3): 729 ~ 740.
- [4] Huycke M M, Moore R D. In Vivo Production of Hydroxyl Radical by *Enterococcus faecalis* Colonizing the Intestinal Tract Using Aromatic Hydroxylation. *Free Radical Biology & Medicine*, 2002, 33 (6): 818 ~ 826.
- [5] Li H Y, Wang J S. Release of active oxygen species from phytopathogenic bacteria and their regulation. *Chinese Science Bulletin*, 1999, 44(1): 71 ~ 75.
- [6] Mayera M A, Staples C R, Gil-ad L N. Mechanisms of survival of necrotrophic fungal plant pathogens in hosts expressing the hypersensitive response. *Phytochemistry*, 2001, 58: 33 ~ 41.
- [7] Deighton N, Muckenschnabel I, Goodman B A, *et al.* Lipid peroxidation and the oxidative burst associated with infection of *Capsicum annuum* by *Botrytis cinerea*. *Plant J.*, 1999, 20: 485 ~ 492.
- [8] Rolke Y, Liu S J, Quidde T, *et al.* Functional analysis of H₂O₂-generating systems in *Botrytis cinerea*; the major Cu-Zn-superoxide dismutase (BCSOD1) contributes to virulence on French bean, whereas a glucose oxidase (BCGOD1) is dispensable. *Molecular Plant Pathology*, 2004, 5(1): 17 ~ 27.
- [9] Thannickal J V, Fanburg L B. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2000, 279: 1005 ~ 1028.
- [10] Julio F T. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J. Physiol.*, 2003, 552(2): 335 ~ 344.
- [11] Machida K, Tanaka T, Fujita K, *et al.* Farnesol-Induced Generation of Reactive Oxygen Species via Indirect Inhibition of the Mitochondrial Electron Transport Chain in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180(17): 4460 ~ 4465.
- [12] Guo J, Lemire D. The Ubiquinone-binding Site of the *Saccharomyces cerevisiae* Succinate-Ubiquinone Oxidoreductase is a Source of Superoxide. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278(48): 47629 ~ 47635.
- [13] Imlay A J, Fridovich I. Assay of metabolic superoxide production in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 1991, 266(11): 6957 ~ 6965.
- [14] Hederstedt L. Enhanced: Complex II Is Complex Too. *Science*, 2003, 31: 671 ~ 672.
- [15] Messner R K, Imlay A J. Mechanism of Superoxide and Hydrogen Peroxide Formation by Fumarate Reductase, Succinate Dehydrogenase, and Aspartate Oxidase. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277(45): 42563 ~ 42571.
- [16] Taylor R R, Mohan K, Miles R J. Diversity of energy-yielding substrates and metabolism in avian mycoplasmas. *Vet. Microbiol.*, 1996, 51(3-4): 291 ~ 304.
- [17] Wang C L, Li Z G, Wu K, *et al.* Preliminary study on the rules of streptococcus mutants reactive oxygen species metabolism. *Chin. J. Stomatol.*, 2001, 36(3): 202 ~ 205.
- [18] Imlay A J. A Metabolic Enzyme that Rapidly Produces Superoxide, Fumarate Reductase of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 1995, 270(25): 19767 ~ 19777.
- [19] Yankovskaya V, Horsefield R, Törnroth S, *et al.* Architecture of Succinate Dehydrogenase and Reactive Oxygen Species Generation. *Science*, 2003, 31: 700 ~ 704.
- [20] Huycke M M, Wendy J, Wack M F. Augment Production of Extracellular Superoxide by Blood Isolates of *Enterococcus faecalis*. *The Journal of Infectious Diseases*, 1996, 173: 743 ~ 746.
- [21] Moy I T, Mylonakis E, Calderwood B S, Ausubel M F. Cytotoxicity of Hydrogen Peroxide Produced by *Enterococcus faecium*. *Infection and Immunity*, 2004, 72(8): 4512 ~ 4520.
- [22] Seaver C L, Imlay A J. Are Respiratory Enzymes the Primary Sources of Intracellular Hydrogen Peroxide? *J. Biol. Chem.*, 2004, 279(47): 48742 ~ 48750.
- [23] Gort S A, Imlay A J. Balance between Endogenous Superoxide Stress and Antioxidant Defenses. *J. Bacteriol.*, 1998, 180(6): 1402 ~ 1410.
- [24] Li X, Li H Y, Pang X Y, Wang J S, *et al.* Production and releasing sites of superoxide anion in phytopathogenic bacteria. *Acta Microbiologica Sinica*, 2005, 45(2): 283 ~ 287.
- [25] Schouten A, Tenberge K B, Vermeer J, *et al.* Functional analysis of an extracellular catalase of *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant Pathology*, 2002, 3(4): 227 ~ 238.
- [26] Lara-Ortiz T, Riveros-Rosas H, Aguirre J. Reactive oxygen species generated by microbial NADPH oxidase NoxA regulate sexual development in *Aspergillus nidulans*. *Molec. Microbiol.*, 2003, 50: 1247 ~ 1255.
- [27] Kawano T, Reinhard P, Nobuyuki U, *et al.* Phenylethylamine-induced generation of reactive oxygen species and ascorbate free radicals in tobacco suspension culture: Mechanism for oxidative burst mediating Ca²⁺ influx. *Plant Cell Physiol.*, 2000, 41(11): 1259 ~ 1266.
- [28] Turpaev T K. Reactive Oxygen Species and Regulation of Gene Expression. *Biochemistry (Moscow)*, 2002, 67(3): 281 ~ 292.
- [29] Thannickal J V, Fanburg L B. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2000, 279: 1005 ~ 1028.
- [30] Messner R K, Imlay A J. The Identification of Primary Sites of Superoxide and Hydrogen Peroxide Formation in the Aerobic Respiratory Chain and Sulfite Reductase Complex of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274(15): 10119 ~ 10128.
- [31] Almágor M, Kahane I, Yatiz S. Role of superoxide anion in host cell injury induced by *Mycoplasma pneumoniae* infection: a study of normal and trisomy 21 cells. *J. Clin. Invest.*, 1984, 73: 842 ~ 847.
- [32] Britigan B E, Roeder T L, Rasmussen G T, *et al.* Interaction of the *Pseudomonas aeruginosa* secretory products pyocyanin and pyochelin generates hydroxyl radical and causes synergistic damage to endothelial cells. Implication for *Pseudomonas*-associated injury. *J. Clin. Invest.*, 1992, 90: 2187 ~ 2195.
- [33] Dolin M I. The DPNH-oxidizing enzymes of *Streptococcus faecalis* II. The enzymes utilizing oxygen, cytochrome c, peroxide and 2, 6-dichlorophenol-indophenol or ferricyanide as oxidants. *Arch Biochem. Biophys.*, 1955, 55: 415 ~ 435.

参考文献:

- [17] 王成龙,李振钢,吴可,等.变形链球菌活性氧代谢规律的初步探讨.中华口腔医学杂志,2001,36(3):202 ~ 205.
- [24] 李欣,李红玉,王金生,等.植物病原细菌中超氧阴离子释放及其释放位点的研究.微生物学报,2005,45(2):283 ~ 287.