

互作对水稻白叶枯病菌 JXO III和 JXO V 超氧阴离子释放的调控

李 欣¹, 李红玉^{1,*}, 庞新跃¹, 冯汉青¹, 王金生²

(1. 兰州大学生命科学学院, 兰州 730000; 2. 南京农业大学植物保护学系农业部病虫监测与治理重点实验室, 南京 210095)

摘要:水稻白叶枯病菌能够引起水稻的白叶枯病等一系列水稻病害。水稻白叶枯病菌 JXO III和 JXO V 细胞中超氧阴离子的释放水平存在显著的差异,并进一步显示在两者亚细胞组分的超氧阴离子释放水平上。这种差异暗示致病性不同的病原菌中, O_2^- 可能具有信号传导及毒性因子的不同作用。亲和性不同的植物-病原菌互作过程对病原菌 JXO III和 JXO V 的超氧阴离子释放具有不同的调控作用。对自身 O_2^- 水平很低的 JXO III来说,亲和互作和非亲和互作过程都可诱导 JXO III中 O_2^- 的释放;然而在自身 O_2^- 水平较高的 JXO V 中,则随亲和性不同而表现出诱导或抑制的不同调控作用。无论是在 JXO III还是在 JXO V 中,互作后分离得到的病原菌仍然能够显示出互作对其 O_2^- 释放的显著影响,这种调控作用很可能具有一定的遗传稳定性。虽然机制还不清楚,但是推测这种调控可能和互作的走向相关。

关键词:白叶枯病菌;致病性;超氧阴离子;电子自旋共振 (ESR);互作

文章编号:1000-0933(2006)12-4192-06 中图分类号:S432.1 文献标识码:A

Regulation on superoxide anion production in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, JXO III and JXO V by host-pathogen interaction

LI Xin¹, LI Hong-Yu^{1,*}, PANG Xin-Yue¹, FENG Han-Qing¹, WANG Jin-Sheng² (1. School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Pests, Ministry of Agriculture, Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China). Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(12): 4192~4197.

Abstract: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) causes bacterial leaf blight, a serious disease of rice. With electron spin resonance, we found that the superoxide anion productions in JXO III and JXO V, two Xoo strains, were distinct from each other, and this difference was also observed in their subcellular fractions. It implies that the superoxide anion likely plays different roles, such as signaling molecule or virulence factor, in strains with various pathogenicities. Strikingly, interactions between rice and JXO III or JXO V also had different impacts on the superoxide anion production by bacteria. For JXO III, superoxide anion production was intensely increased by either compatible or incompatible interactions with plants. But for JXO V, the original high superoxide anion production was further enhanced by the compatible interaction while depressed by the incompatible interactions with plants. Furthermore, these impacts were maintained in both JXO III and JXO V cells separated from plants correspondingly treated with each of them, which indicated the transmissibility of the effects on bacteria by interaction between plant and pathogen. It elucidates that the regulation of superoxide anion depends on the compatibility between plant and pathogens. However, the pathological mechanisms remain unclear.

Key words: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo); pathogenicity; superoxide anion (O_2^-); electron spin resonance (ESR);

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (36070070, 30170238)

收稿日期:2005-09-28; **修订日期:**2006-04-12

作者简介:李欣(1979~),女,河北邯郸人,博士生,主要从事植物-病原菌相互作用研究. E-mail:lixin2004@st.lzu.edu.cn

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

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 36070070, 30170238)

Received date:2005-09-28; **Accepted date:**2006-04-12

Biography: LI Xin, Ph.D. candidate, mainly engaged in the interaction between plant and pathogen. E-mail:lixin2004@st.lzu.edu.cn

interaction

病原侵染植物后,互作体系中快速、短暂、大量的活性氧产生称为氧化爆发(Oxidative burst)^[1~3]。超氧阴离子的产生和释放是氧化爆发中的活性氧的主体之一^[4]。动植物与病原互作过程中都发现,不仅寄主能够释放超氧阴离子,病原中也能够有大量超氧阴离子产生^[5~7],这些超氧阴离子不仅对病原菌自身细胞具有重要的生理学功能^[7~11],在互作过程中也具有重要的作用^[12]。

在植物病原真菌灰葡萄孢病菌中和动物病原细菌肠球菌中已发现超氧阴离子释放相关调控基因的表达以及细胞中的超氧阴离子水平均对病原菌的致病性有显著的影响,超氧阴离子的释放与菌株的致病性密切相关^[3,6]。之前作者报道了在许多植物病原细菌株系中具有自身释放超氧阴离子的现象,其释放规律与菌株的致病性可能存在一定的关系^[13,14]。为进一步了解植物病原细菌超氧阴离子释放、调控的机制与这些超氧阴离子释放与互作进程、菌株致病性的联系,作者以黄单胞菌属两个典型的、同一小种但是致病性不同的菌株-水稻白叶枯病菌日本小种菌株 JXO II和 JXO V为对象,对上述疑问进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 药品

Tiron (1, 2-dihydroxybenzene-3, 5-disulfonic acid) 购自 Sigma 公司。对氨基苯磺酸、 α -奈胺、盐酸羟胺购于上海 Sangon 公司。

1.2 水稻品系和菌株

水稻品种采用圣稻 301 和豫粳 6 号,购自河南省洛阳市农业科学研究所。

黄单胞菌属水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)日本系统菌株 JXO II和 JXO V,由南京农业大学植物保护学系农业部病虫害监测与治理重点实验室提供。

采用 NA 培养基(pH 7.0):蔗糖 10g/L,蛋白胨 5g/L,酵母粉 1g/L,牛肉浸膏 3g/L,琼脂 16g/L。将上述菌株接种于 NA 液体培养基中,28℃振荡培养至菌液混浊,备用。

1.3 超氧阴离子检测

(1)羟胺氧化法:按照 Schneider K. 等的羟胺氧化法进行样品中超氧阴离子浓度的测定^[15]。

(2)电子自旋共振法(ESR)^[16,17]:检测时将各菌株的菌悬液稀释至相同浓度,严格意义上比较样品的超氧阴离子水平。ESR 检测时均将培养 36h 的对数期菌悬液稀释至 10^9 cfu/ml,检测样品中的超氧阴离子信号。

以 Tiron 为超氧阴离子的特异性捕捉剂,将 Tiron 加入样品溶液中,使捕捉剂终浓度为 10mmol/L,混匀,立即吸入一端封闭的玻璃毛细管中,5 min 时放入德国 Bruker ER-200D 型 ESR 波谱仪的样品腔中检测超氧阴离子信号。

测试条件:微波频率,9.45GHz;微波功率,10mW;调制频率,100kHz;调制,1Gpp;增益, 5×10^5 ;时间响应,0.5S;中心磁场,3380G;扫场宽度,200G。

1.4 分级分离制备各细胞组分

菌悬液培养至对数期 36h,同时分级分离 JXO III、JXO V 两个菌株的各亚细胞组分。对数期菌悬液低速离心(3300 g, 10 min)得到菌体细胞,为了排除培养基的干扰,用等体积无菌水重悬,得到菌悬液样品。取出 1/10 体积水悬菌液用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,得到滤液组分^[13];余下菌悬液用石英砂破碎细胞,离心除去未破碎的细胞。上清离心(25000 g, 20 min)得到细胞壁组分的沉淀^[18],上清备用。细胞壁沉淀用上清等体积水重悬得到细胞壁样品;上清超速离心(103000 g, 30 min)得到细胞膜组分沉淀^[19],用等体积水重悬细胞膜样品。重复 3 次以上分级分离制备各组分,用 ESR 法同时检测各组分中的超氧阴离子信号。

1.5 与寄主植物互作对病原菌自身超氧阴离子水平的影响

(1)将上述菌株 JXO II及 JXO V 的 10^9 cfu. ml⁻¹ 菌液用剪叶法侵染圣稻 301 及豫粳 6 号水稻三叶期幼苗,约 4d 后开始发病。取回接种叶片,分离病原菌。同时将未互作处理的菌种在琼脂平板上划线培养,以作对照。

(2) 分别挑取对照菌株及互作处理后分离出的菌株的单菌落,液体培养至 36h。

(3) 比较对照菌株与互作处理后菌株细胞中的超氧阴离子水平。

1.6 统计学分析

用 Spss 进行统计学分析。

2 实验结果

2.1 JXO II及 JXO V细胞中超氧阴离子水平比较

3 次重复的 ESR 检测具有稳定的结果(图 1),在相同菌悬液浓度下,对它们 36h 菌悬液的 ESR 检测结果显示二者信号强度差异极显著($p < 0.01$):JXO V 菌悬液中的 O_2^- 信号很强,与此相反,JXO II 中没有检测到明显的 O_2^- 信号。

2.2 JXO II及 JXO V各组分超氧阴离子释放活性比较

为了确定菌悬液中没有检测到 O_2^- 信号的菌株 JXO II 的亚细胞组分是否完全不具有 O_2^- 释放活性,以及 JXO III、JXO V 各分组的 O_2^- 释放活性是否与它们的 O_2^- 水平差异相关。检测 JXO III、JXO V 的各亚细胞组分中 O_2^- 释放活性。

2.2.1 羟胺氧化法检测 结果显示,JXO II 和 JXO V 的细胞中 O_2^- 水平具有极显著的差异($p < 0.01$)。JXO V 细胞中具有较高的 O_2^- 水平($(27.78181 \pm 5.767327) \mu\text{mol/L}$),分级分离后得到的各个组分中,滤液组分中的 O_2^- 释放能力最强($(18.65512 \pm 4.902672) \mu\text{mol/L}$),细胞壁和细胞膜中检测到极微弱的 O_2^- 释放活性(分别为 $(0.161959 \pm 0.014823) \mu\text{mol/L}$ 和 $(0.585577 \pm 0.007411) \mu\text{mol/L}$)。JXO II 细胞中的 O_2^- 水平极低($(2.742024 \pm 0.252067) \mu\text{mol/L}$),同时滤液、细胞壁和细胞膜中也检测到极微弱的 O_2^- 释放活性(分别为 $(6.705591 \pm 1.109642) \mu\text{mol/L}$, $(0.11137 \pm 0.003098) \mu\text{mol/L}$ 和 $(0.184861 \pm 0.006614) \mu\text{mol/L}$)。以上结果说明,病原菌细胞中普遍存在细胞壁及细胞膜等多位点的 O_2^- 释放活性。同时,病原菌细胞 O_2^- 释放的主要位点可能是在胞外,菌株细胞中的 O_2^- 水平越高,滤液中的 O_2^- 释放活性越强。

2.2.2 ESR 法检测

与羟胺氧化法的结果一致,3 次 ESR 检测的统计学结果显示(图 2),菌悬液中 O_2^- 水平极低的 JXO II 在滤液中检测到微弱 ESR 信号。JXO V 滤液中检测到极显著强于 JXO II 滤液组分的 O_2^- 释放信号($p < 0.01$),JXO II 和 JXO V 的细胞膜和细胞壁样品中基本检测不到 O_2^- 的 ESR 信号,与作者之前在白叶枯病菌 OS-14 中实验结果相符^[14],白叶枯病菌 JXO III 和 JXO V 的 O_2^- 释放很可能也是来源于滤液组分。白叶枯病菌甚至病原菌细胞中 O_2^- 释放的主要位点可能普遍是在胞外。

2.3 互作对病原菌超氧阴离子释放的调控

2.3.1 互作对 JXO II超氧阴离子释放的影响 水稻品种豫粳 6 号接种白叶枯病菌 JXO II 后,接种切口出现黄色细条状斑,有个别叶片出现黄褐色斑点,表现为非亲和互作;而 JXO II 接种于水稻圣稻 301 后,大部分水稻叶片出现黄褐色病斑,且有扩大的趋势,表现为亲和互

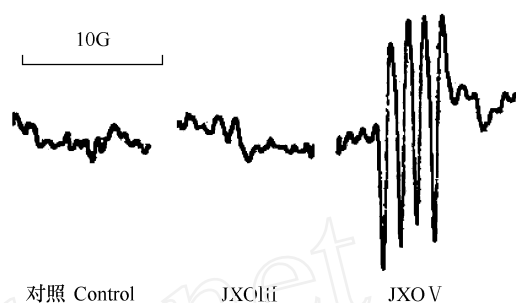


图 1 菌株 36h 菌悬液中超氧阴离子 ESR 信号

Fig. 1 ESR signals of O_2^- in suspensions 36h inoculated

对照是 Tiron 空白信号 Control is Tiron only

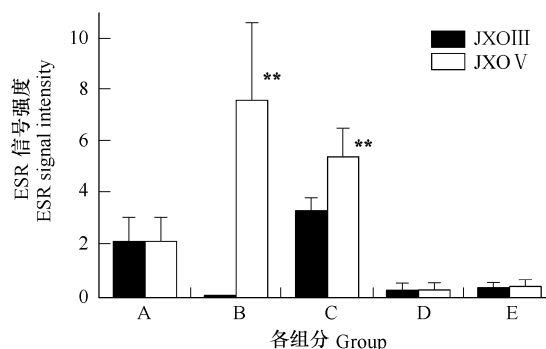


图 2 JXO II和 JXO V各个组分超氧阴离子 ESR 信号比较

Fig. 2 ESR signal intensity of O_2^- in cellular fractions of JXO III and JXO V

A: 空白 Tiron only; B: 菌悬液 Bacterial suspension; C: 滤液 Filtrate; D: 细胞壁 Cell wall; E: 细胞膜 Cytoplasmic membrane

作。病原菌接种后 4d 开始出现病斑,6d 后病斑范围已经较大,选病斑较大的叶片开始分离病原菌。

JXO II与圣稻 301 互作 6d 后分离菌株,涂平板培养 48h 开始有白叶枯病菌菌落出现,48h 至 96h 之间选单菌落培养,得到的菌株记为“JXO II301”;JXO II与水稻豫粳 6 号互作 6d 后分离菌株,得到的菌株记为“JXO II豫粳”。

将培养 36h 的各类 JXO II菌悬液稀释至 10^9 cfu/ml,ESR 法比较对照菌株与互作后菌株细胞中 O_2^- 水平的变化,如图 3 所示。

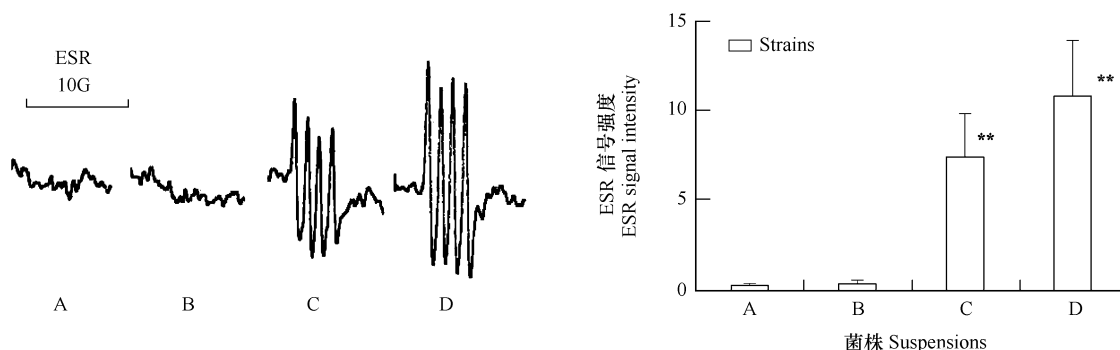


图 3 JXO II与互作后菌株 36h 超氧阴离子释放能力比较

Fig. 3 Comparison of O_2^- production on suspensions 36h inoculated among JXO II and strains interacted

A. 空白 Tiron only; B. JXO II对照菌株 JXO II; C. JXO II301 JXO II301; D. JXO II豫粳 JXO II Yujing

3 次重复的结果均显示:JXO II对照菌株胞内的 O_2^- 水平极低,亲和与非亲和互作后分离得到的两个菌株 JXO II301 和 JXO II豫粳与对照菌株的 O_2^- 信号相比均有极显著的增强 ($p < 0.01$)。非亲和互作后分离得到的菌株 JXO II豫粳的增强幅度更大。互作后分离得到的菌株在培养的过程中,已经经历脱离互作体系后的长时间繁殖过程。但是病原菌的 O_2^- 释放仍然显示出受到互作过程的影响,说明互作过程可诱导 JXO II菌中 O_2^- 的释放,非亲和互作过程对病原菌胞内 O_2^- 水平的诱导作用更强。这就意味着在不释放 O_2^- 信号的 JXO II菌中无论亲和互作还是非亲和互作,都有诱导 JXO II菌中 O_2^- 的释放增强的作用,并且在互作后仍然具有对病原菌 O_2^- 释放的影响。这种影响很可能在病原菌中具有一定的遗传稳定性。

2.3.2 互作对 JXO V超氧阴离子释放的影响 JXO V与圣稻 301 互作后分离得到的菌株记为“JXO V-301”;JXO V与水稻豫粳 6 号互作后分离得到的菌株记为“JXO V-豫粳”。与 JXO II相反,水稻品种豫粳 6 号与白叶枯病菌 JXO V表现为亲和互作,大部分叶片出现病斑;而 JXO V对水稻圣稻 301 是非亲和互作现象,叶片基本不出现染病现象。将培养 36h 的各类菌悬液稀释至 10^9 cfu/ml,用 ESR 法比较对照菌株与互作后菌株细胞中 O_2^- 水平的变化,重复 3 次检测得到稳定的结果,如图 4 所示。

互作后两个菌株的细胞中 O_2^- 信号与 JXO V原始菌株相比均发生变化(图 4)。其中 JXOV 与水稻豫粳 6 号的亲和互作过程极显著提高 JXO V细胞中的 O_2^- 水平 ($p < 0.01$)。而 JXO V与水稻 301 的非亲和互作过程中却显著降低 JXO V细胞中的 O_2^- 水平 ($p < 0.01$)。因此,互作对 JXO V菌株 O_2^- 释放的调控作用明显不同于 JXO II菌。在 JXO V菌中,互作发生前 JXO V菌中 O_2^- 的释放已经较强,互作既可促进 JXO V菌中 O_2^- 的释放,也可抑制 JXO V菌中 O_2^- 的释放。

3 分析与讨论

水稻白叶枯病菌日本小种菌株 JXO II和 JXO V是黄单胞菌属两个典型的、同一小种但是致病性相反的菌株。JXO II和 JXO V都具有致病性,但针对同一寄主品系时二者致病性往往相反。JXO II与水稻 IR26 是亲和互作,与水稻早生爱国者 3 号是非亲和互作;而 JXO V则正好相反^[20]。水稻 IRBBXa4 与 JXO II是亲和的,与 JXO V非亲和^[21]。本实验中,JXO II与实验水稻圣稻 301 表现为亲和互作,与水稻豫粳 6 号表现为非亲和;JXO

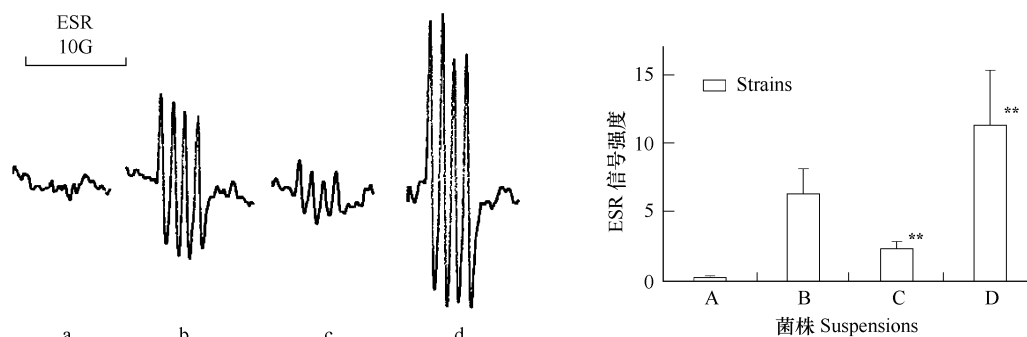


图4 JXOV 与互作后菌株 36h 超氧阴离子释放能力比较

Fig. 4 Comparison of O_2^- production on suspensions 36h inoculated among JXOV and strains interacted

A. 空白 Tiron only, B. JXOV 对照菌株 JXOV; C. 为 JXOV-301 JXOV-301; D. JXOV-豫梗 JXOV- Yujing

V则正好相反。本实验以这两个致病性相反的典型菌株为对象,分析二者细胞中 O_2^- 释放的差异,并比较与水稻的互作过程对它们 O_2^- 释放的调控,尝试了解 O_2^- 在病原菌致病过程中的作用。

以往的化学法结果表明,JXO II和JXO V,都有释放 O_2^- 现象,但是释放水平有显著的差异^[14]。本实验的ESR检测结果进一步证明,JXO II和JXO V中 O_2^- 释放水平存在极显著的差异,JXO V细胞中维持很高的 O_2^- 水平,而JXO II细胞中的 O_2^- 水平极低。JXO V的滤液组分中具有显著强于JXO II组分的 O_2^- 释放活性,暗示病原菌滤液中的胞外组分可能对细胞(如JXO V)中所需的较高 O_2^- 水平有重要的贡献。

已有实验显示,在合适的浓度下, O_2^- 在细胞信号途径中起重要的调控因子的作用。在膜受体的信号转导等其他生理功能中发现了 O_2^- 的信号分子作用^[22], O_2^- 在转录因子 SoxR 的活化等基因调控信号的传递中也起到重要的作用^[11]。另一方面,有氧环境中,在胞内产生的 O_2^- 对细胞具有潜在的毒性。当细胞内 O_2^- 浓度过高时,就会引起大分子如脂质、蛋白和DNA的损伤^[11]。致病性不同的病原菌细胞中 O_2^- 水平的差异,初步显示致病性不同的病原菌中, O_2^- 可能具有不同的作用。据推测,高 O_2^- 水平的细胞(如JXO V)中, O_2^- 可能不仅在细胞中起到传导信号的作用,更可能作为病原菌侵染植物时的一种毒性因子; O_2^- 水平低的细胞(如JXO II)中, O_2^- 可能仅仅起到传导信号的作用。

为了了解互作过程是否不仅影响寄主植物,对病原菌的 O_2^- 释放也有调控的作用,JXO II和JXO V侵染亲和性不同的寄主植物后,本实验从互作体系中分离病原菌。在实验中观察到两种互作调控病原菌 O_2^- 释放的形式,对自身 O_2^- 水平很低的JXO II来说,亲和互作和非亲和互作过程都可诱导JXO II中 O_2^- 的释放增强(图3);第二种调控形式存在于自身有 O_2^- 水平较高的JXO V中,则随亲和性不同而表现出诱导或抑制的不同调控作用(图4)。无论是在JXO II还是在JXO V中,互作后分离得到的病原菌仍然能够显示出互作对其 O_2^- 释放的显著影响,显示互作可能对病原菌具有调控作用,这种作用很可能具有一定的遗传稳定性。但互作过程中病原菌是否受到更强的调控作用,并且在基因水平上也受到显著的影响从而导致这种长效效应,还有待更深入的分析结果。虽然由于寄主植物-病原菌互作体系的复杂性以及实验技术的局限,目前仍无法阐明亲和性不同的植物-病原菌互作过程调控病原菌JXO II和JXO V的超氧阴离子释放的病理学意义,但本实验的结果显示互作有可能对病原菌超氧阴离子释放造成长久的影响,这些实验证据将有助于从活性氧这个新的角度去理解植物病原细菌的致病机理以及寄主植物-病原菌相互作用的机理。

References :

- [1] Lamb C, Dixon R A. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, 48: 251~275.
- [2] Doke N. Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissue to infection with an incompatible race of

- Phytophthora infestans and to the hyphal wall components. *Physiol Plant Pathol*, 1983, 23: 345~357.
- [3] Rolke Y, Liu S J, Quidde T, *et al.* Functional analysis of H_2O_2 -generating systems in *Botrytis cinerea*: the major Cu-Zn superoxide dismutase (BCSOD1) contributes to virulence on French bean, whereas a glucose oxidase (BCOOD1) is dispensable. *Molecular Plant Pathology*, 2004, 5(1): 17~27.
- [4] Wójtaszek P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochem J*, 1997, 322: 681~692.
- [5] Imlay A J, Fridovich I. Assay of metabolic superoxide production in *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 1991, 266(11): 6957~6965.
- [6] Huycke M M, Wendy J, Wack M F. Augment Production of Extracellular Superoxide by Blood Isolates of *Enterococcus faecalis*. *The Journal of Infections Diseases*, 1996, 173: 743~746.
- [7] 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.
- [8] Yankovskaya V, Horsefield R, Törnroth S, *et al.* Architecture of Succinate Dehydrogenase and Reactive Oxygen Species Generation. *Science*, 2003, 31: 700~704.
- [9] Seaver C L, Imlay A J. Are Respiratory Enzymes the Primary Sources of Intracellular Hydrogen Peroxide? *J. Biol. Chem.*, 2004, 279(47): 48742~48750.
- [10] Turpaev T K. Reactive Oxygen Species and Regulation of Gene Expression. *Biochemistry (Moscow)*, 2002, 67(3): 281~292.
- [11] Thannickal J V, Fanburg L B. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2000, 279: 1005~1028.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] Schneider K, Schlegel G H. Production of superoxide radicals by soluble hydrogenase from *Alcaligenes eutrophus* H16. *Biochem J*, 1981, 193: 99~107.
- [16] McRae D G, Thompson J E. Sencence-dependent changes in superoxide anion production by illuminated chloroplasts from bean leaves. *Planta*, 1983, 158: 185~193.
- [17] Gönner V M, Schlösser E, Neubacher H. Evidence from electron-spin resonance for the formation of free radicals during infection of *Avena sativa* by *Drechslera* spp. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1993, 42(6): 405~412.
- [18] Ketela T, Green R, Bussey H. *Saccharomyces cerevisiae* Mid2p is a Potential Cell Wall Stress Sensor and Upstream Activator of the PKC1-MPK1 Cell Integrity Pathway. *J Bacteriol*, 1999, 181(11): 3330~3340.
- [19] Norling B, Zak E, Andersson B, Pakrasi H. 2D-isolation of pure plasma and thylakoid membrane from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett*, 1998, 436: 189~192.
- [20] Xu W L, Li X G, Zhang X J, *et al.* Primary study of avirulence gene of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *High Technology Letters*, 1995, 15(1): 5~9.
- [21] Qi F J, Liu Y, Gao X, *et al.* Induction of local and systemic resistance responses to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* of rice by incompatible race. *Shandong Agricultural Sciences*, 2003, 1: 6~9.
- [22] Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 2002, 82(1): 47~95.

参考文献:

- [14] 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.
- [20] 徐文联, 李向红, 张学军, 王金生. 水稻白叶枯病菌无毒基因的研究初报. *高技术通讯*, 1995, 1: 5~9.
- [21] 齐放军, 刘纓, 高学文, 何晨阳. 水稻白叶枯病局部和系统抗性的诱导. *山东农业科学*, 2003, 1: 6~9.