

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00081

# 十字花科黑腐病菌中影响致病相关基因 *XC3814* 表达的基因鉴定

苏辉昭<sup>1</sup>, 向志娇<sup>1</sup>, 彭方印<sup>1</sup>, 李瑞芳<sup>1</sup>, 安世琦<sup>1</sup>, 陆光涛<sup>1</sup>, 唐纪良<sup>1,2</sup>

1. 广西大学生命科学与技术学院, 南宁 530005;
2. 广西亚热带生物资源保护利用重点实验室, 南宁 530005

**摘要:** 十字花科黑腐病菌 8004 菌株的 *XC3814* 基因与致病性和胞外多糖合成有关。文章将 *XC3814* 的启动子与报告基因 *sacB* 融合, 构建了 *XC3814* 的表达报告质粒 pL3814*sac*。将该质粒导入野生型菌株 8004, 获得了报告菌株 8004/pL3814*sac*。利用转座子 EZ::Tn5 对报告菌株的基因组进行随机诱变, 分离到 3 株耐蔗糖的突变体。分析发现其中的 1 株突变体是由 EZ::Tn5 插入到编号为 *XC3882* 的未知功能的基因所产生的。将由 *XC3814* 启动子与报告基因 *gusA* 融合得到的报告质粒 pGUS3814 分别导入 8004 菌株和 *XC3882* 的转座子 Tn5*gusA5* 插入突变体, 测定比较 pGUS3814 的 GUS 表达水平, 结果显示在 *XC3882* 突变体背景下 GUS 的表达水平比在野生型背景下降低 81.3%, 表明 *XC3814* 基因的表达水平受 *XC3882* 基因的影响。

**关键词:** 野油菜黄单胞菌; 致病相关基因; 表达调控

## Identification of a gene involved in the expression of the pathogenicity-related gene *XC3814* in *Xanthomonas campestris*

SU Hui-Zhao<sup>1</sup>, XIANG Zhi-Jiao, PENG Fang-Yin<sup>1</sup>, LI Rui-Fang<sup>1</sup>, AN Shi-Qi<sup>1</sup>, LU Guang-Tao<sup>1</sup>, TANG Ji-Liang<sup>1,2</sup>

1. College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China;
2. Guangxi Key Laboratory of Subtropical Bioresource Conservation and Utilization, Nanning 530005, China

**Abstract:** *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*) is the causal agent of the black rot disease of cruciferous plants. Our previous work had demonstrated that *XC3814* is required for full virulence and extracellular polysaccharide production. In this work, the reporter plasmid pL3814*sac* was constructed by fusing the promoter region of *XC3814* to the coding region of the gene *sacB*, and introduced into *Xcc* wild-type strain 8004. The resulted strain 8004/pL3814*sac* was mutagenized randomly by the transposon EZ::Tn5, and 3 mutant strains insensitive to sucrose were isolated. One of the mutants was due to the disruption of the open reading frame *XC3882*, which was assigned to code a hypothetical protein. To verify whether *XC3882* has an impact on the expression level of *XC3814*, the reporter plasmid pGUS3814 was constructed by fusing the promoter region of *XC3814* to the coding region of the *gusA* gene. This construct was introduced into the wild-type strain 8004 and the *XC3882* mutant strain 190A10, which was derived from the transposon Tn5*gusA5* insertion. The GUS activity,

收稿日期: 2009-05-04; 修回日期: 2009-09-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30771177)资助

作者简介: 苏辉昭(1983-), 男, 硕士研究生, 专业方向: 微生物学。E-mail: suzhao123@yahoo.com.cn

通讯作者: 唐纪良(1957-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 分子植物病理学。E-mail: jltang@gxu.edu.cn

produced by pGUS3814 in the XC3882 mutant background, was reduced by 81.3% compared to that in the wild type background. These results indicate that the expression of XC3814 is influenced by XC3882.

**Keywords:** *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*; pathogenicity-related gene; expression regulation

十字花科黑腐病菌, 又称甘蓝黑腐病菌或野油菜黄单胞菌野油菜致病变种, 病原学名为 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (简称 *Xcc*)。该病菌能在世界范围内侵染白菜、芥菜、甘蓝、萝卜、油菜和拟南芥等所有十字花科植物, 引起植物发生黑腐病, 造成经济损失。

该病原菌所产生的胞外多糖 (Extracellular polysaccharide, EPS) 和一系列的胞外酶如蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶等被认为是致病生化因子<sup>[1]</sup>。病原菌对寄主的致病过程需要这些致病因子的协同作用, 但单个因子在致病过程的精确作用仍未十分清楚。近年研究发现, EPS 能抑制寄主植物的防御反应, 从而提高了寄主对病原菌的敏感性<sup>[2]</sup>。另外, EPS 也可以保护病原菌避免被寄主植物的识别, 从而使病原菌能在寄主内生长繁殖<sup>[3]</sup>。除了在致病过程中的作用外, 由于 *Xcc* 所产生的 EPS 具有独特的理化性质, 因而被作为稳定剂、乳化剂、悬浮剂、增稠剂、泡沫增强剂等广泛应用于食品业、造纸业、石油业、农业等多个行业中<sup>[4]</sup>。其商品名称为黄原胶, 是目前发酵工业中最为成功的发酵产品。

*Xcc* 是国际上研究植物病原菌的致病分子机理的模式菌之一, 其致病机理自 20 世纪 80 年代初以来一直受到人们的重视。另外, 由于 EPS 是一种具有重要经济价值的高分子聚合物, 其生物合成机理也受到人们的关注。人们期望通过 *Xcc* 合成 EPS 的具体过程及调控机理的深入了解, 来实现在工业生产过程中对黄原胶的产量和质量进行控制。近年来微生物基因组学的迅猛发展, 为研究该病原菌的致病机理及 EPS 生物合成机理提供了新的平台, 目前已有 AT33913、8004 和 B100 3 个菌株先后完成了全基因组序列的测定。在前期工作中, 我们利用基因组学资源及研究方法, 证实了 8004 菌株基因组中编号为 XC3813、XC3814、XC3815 的 3 个基因与致病性和胞外多糖合成有关<sup>[5]</sup>, 它们分别拥有各自的启动子, 位于各自的编码区上游约 60 bp 的 DNA 序列范围内

<sup>[6]</sup>。但目前对这一簇新的致病相关基因的了解还非常有限, 如基因表达调控的机理、基因编码产物的生理生化功能以及在 EPS 合成过程中的具体作用等均未了解, 还有待深入研究。本研究通过将包含有 XC3814 的启动子的 DNA 片段与报告基因 *sacB* 或 *gusA* 融合, 构建表达报告质粒, 并利用报告质粒鉴定了编号为 XC3882 的基因对 XC3814 的表达具有调控作用。这为今后深入研究这簇新基因的表达调控机理提供了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株及培养条件

本研究所用菌株及质粒见表 1。*Xcc* 的液体培养使用 NYGB 培养基 (每 L 含蛋白胨 5.0 g, 酵母提取粉 3 g, 甘油 20 g, pH 7.0); 固体培养使用 NYGA 培养基 (NYGB + 1.5% 的琼脂粉)。大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的液体培养使用改良 LB 培养基 (每 L 含胰蛋白胨 10 g, 酵母提取粉 5 g, NaCl 10 g, 葡萄糖 1 g, pH 7.0); 固体培养使用 LA 培养基 (LB + 1.5% 琼脂粉)。菌株的培养条件及所用抗菌素参考文献<sup>[6]</sup>。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因操作

质粒 DNA 的碱裂解法提取、细菌总 DNA 的快速提取、限制性内切酶酶切、DNA 的连接转化均按 Sambrook 等<sup>[13]</sup>方法或试剂生产公司提供的方法进行。三亲本接合和二亲本接合按照 Turner 等<sup>[14]</sup>所述方法进行。PCR 反应所需引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。所用的限制性内切酶、T4 连接酶、*pfu* 聚合酶等购自上海普洛麦格生物产品有限公司。

#### 1.2.2 报告质粒的构建

以 *Xcc* 8004 菌株的总 DNA 为模板, 采用 PCR 扩增一段 454 bp 的 XC3814 上游同源片段 (包含

表 1 本研究所用的菌株及质粒

菌株及质粒		相关功能	文献来源
<i>E. coli</i>			
JM109	<i>RecA1, endA1, gyrA96, thi, supE44, relA1, Δ (lac-proAB)/F' [traD36, lacI<sup>r</sup>, lacZ ΔM15]</i>		[7]
DH5α	Φ80Δ <i>lacZ</i> M15 <i>recA1 endA1 deoR</i>		Gibco BRL 生物技术公司
HB101	<i>recA 13rps</i>		[8]
<i>Xcc</i>			
8004	野生型菌株, Rif <sup>r</sup>		[9]
8004/p <i>LsacB</i>	8004 携带 p <i>LsacB</i> , Rif <sup>r</sup> Tet <sup>r</sup>		本研究
190A10	与 8004 一样, 但 <i>XC3882</i> 被Tn5 <i>gusA5</i> 插入失活, 致病缺陷, Rif <sup>r</sup> , Kan <sup>r</sup> , Spc <sup>r</sup> , Gm <sup>r</sup>		本实验室保存
3814nk	与 8004 一样, 但 <i>XC3814</i> 被pK18 <i>mob</i> 插入失活, Rif <sup>r</sup> , Kan <sup>r</sup>		[5]
8004/pGUS3814	8004 携带 pGUS3814, Rif <sup>r</sup> Tet <sup>r</sup>		本研究
190A10/pGUS3814	190A10 携带 pGUS3814, Rif <sup>r</sup> Kan <sup>r</sup> Tet <sup>r</sup>		本研究
质粒			
pLAFR6	无启动子的广谱克隆载体, Tra <sup>-</sup> , Mob <sup>+</sup> , Tc <sup>r</sup> IncP 复制子		[10]
pRK2073	帮助质粒, Tra <sup>+</sup> , Mob <sup>+</sup> , ColE1, Spc <sup>r</sup> .		[11]
pL6 <i>gus</i>	pLAFR6克隆有1 832 bp 的 <i>gusA</i> 片段		本实验室保存
p <i>LsacB</i>	pLAFR6 的 <i>KpnI/PstI</i> 位点克隆有 1 463 bp 的 <i>sacB</i> 片段, Kan <sup>r</sup>		[12]
pGUS3814	pL6 <i>gus</i> 克隆有 454 bp 的 <i>XC3814</i> 上游片段, Tet <sup>r</sup>		本研究
pL3814 <i>sacB</i>	p <i>LsacB</i> 克隆有 454 bp 的 <i>XC3814</i> 上游片段, Tet <sup>r</sup>		本研究

*XC3814* 起始密码子)。所用引物proF/R(proF: 5'-ACAGTTGAATTCACACCGGGTCCAGTTTGG-3', proR: 5'-ACAGTTGGATCCCATGTGATGGCCGAATAC-3')是根据*XC3814* 的开放阅读框(ORF)上游DNA的序列,采用vector NTI 9.0 软件所设计的。为方便克隆,引物的 5'端分别加上*EcoR* I 和*Bam*H I 的酶切位点序列(下划线部分)。将PCR扩增所得的DNA片段经测序证实符合需要后,分别克隆到质粒p*LsacB*和pL6*gus*的*EcoR* I /*Bam*H I 位点上,获得报告质粒pL3814*sacB*和pGUS3814。p*LsacB*和pL6*gus*是将不包括起始密码子的1 463 bp的报告基因*sacB*和1 832 bp的报告基因*gusA*分别克隆在质粒pLAFR6 上所产生的重组质粒。报告基因*sacB*和*gusA*分别编码果聚糖蔗糖转移酶(EC 2.4.1.10)和β-葡萄糖苷 酸酶。

1.2.3 β-葡萄糖苷酸酶(GUS)活性检测

将*Xcc*菌株的过夜培养物的浓度调至OD<sub>600</sub>约为0.5 后,取 1.0 mL接种到 200 mL的NYGB 培养基中摇瓶培养 36 h,吸取 1.0 mL培养液,按Henderson等[15]所描述的方法,以硝基苯酚葡萄糖苷酸(p-nitrophenyl β-D-Glucuronide)为反应底物,测定GUS活性。用 10<sup>10</sup>活菌数(cfu)所显示的酶活性来比较菌株间的GUS活性的差异。

1.2.4 DNA 序列分析

DNA 序列的测定由上海鼎安生物有限公司完成。

2 结果与分析

2.1 *XC3814* 报告质粒 pL3814*sacB* 的构建

根据*Xcc*8004 菌株的全基因组序列资料,编号为*XC3814* 的ORF位于基因组 4 508 277 至 4 509 101 bp 的区域,全长 825 bp[16]。本研究采用PCR扩增得到了一段与*XC3814* 上游(含起始密码子)同源的 454 bp 的DNA片段。DNA片段经过测序验证后,将其克隆到p*LsacB*质粒的*EcoR* I /*Bam*H I 位点上,获得重组质粒pL3814*sacB*。

2.2 报告菌株的诱变及突变位点的鉴定

在含蔗糖的培养基中培养携带有 *sacB* 基因的*Xcc* 时, *sacB* 基因的表达会使 *Xcc* 的生长受抑制,因此只有在 *sacB* 基因不表达或表达量极低时, *Xcc* 才能生长繁殖。根据这些特征,为了鉴定 *Xcc* 基因组中影响 *XC3814* 表达的基因,本研究将报告质粒 p*LsacB* 通过三亲本接合导入 *Xcc* 野生型菌株 8004,获得报告菌株 8004/p*LsacB*,然后采用转座子

EZ::Tn5 对报告菌株的基因组进行诱变,并在含 2% 蔗糖的 NYGA 平板上分离突变体,获得了 3 个生长克隆。首先采用 PCR 检测这 3 个克隆所携带的报告质粒 pLsacB 是否完整,结果发现在其中的 2 个克隆中, pLsacB 的 *XC3814* 启动子 DNA 片段插入有 EZ::Tn5 转座子,表明这 2 个克隆是由于报告质粒 pLsacB 本身被插入破坏而形成的。而对于另一个克隆,由于 pLsacB 质粒未被 EZ::Tn5 所插入破坏,因此该克隆的形成可能与 *Xcc* 基因组中某个特定基因被转座子插入失活有关,并且该基因与 *XC3814* 的表达水平有关。

为了鉴定这一基因,我们将突变体的总 DNA 经 *Eco*R I 酶切,连接到质粒 pUC19 上,然后转化到 *E. coli* 细胞,在含卡那霉素(Kan)的平板培养基上筛选获得了一个携带有 EZ::Tn5 转座子的重组质粒,命名为 pUXK,其酶切鉴定见图 1。该重组质粒携带有一段约 20 kb 的外源 DNA 片段。分别利用与转座子两端互补的寡核苷酸为引物(由 Epicentre 公司 EZ-Tn5™ <KAN-2>Tnp Transposome™ Kit 所提供),对重组质粒中转座子旁侧序列进行测定,将所获得的两段 DNA 序列与数据库中的 *Xcc* 8004 菌株的全基因组序列进行序列相似性比较,以确定转座子在基因组中的插入位点。结果发现该突变体的 EZ::Tn5 转座子插入在基因组第 4 586 912 bp 与 4 586 913 bp 之间。根据基因组注释,8004 菌株的基因组 4 586 693 bp 至 4 587 190 bp 之间的 DNA 序列组成一个编号为 *XC3882* 的 ORF。*XC3882* 编码的产物为一功能未知的保守蛋白<sup>[16]</sup>。

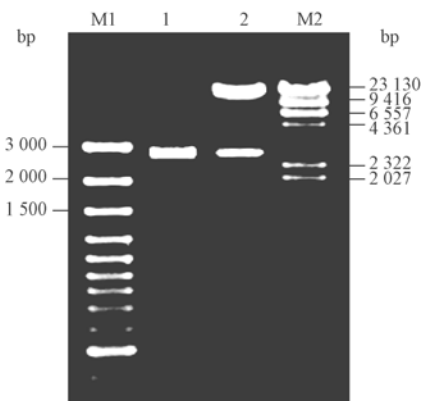


图 1 pUXK 重组质粒的检测

M1: 100 bp 的 DNA 分子标记; 1: *Eco*R I 酶切的 pUC19 质粒 DNA; 2: *Eco*R I 酶切的 pUXK 重组质粒 DNA; M2:  $\lambda$ -DNA/*Hind*III 分子标记。

### 2.3 *XC3882* 失活后严重影响 *XC3814* 的表达

为证实 *XC3882* 是否与 *XC3814* 的表达有关,本研究将含有 *XC3814* 启动子的 454 bp DNA 片段与 1 832 bp 的编码  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶的 *gusA* 基因融合,构建报告质粒 pGUS3814。将 pGUS3814 通过三亲本接合分别导入 *XC3882* 的 Tn5 *gusA5* 突变体 190A10 和野生型菌株 8004,获得菌株 190A10/pGUS3814 和 8004/pGUS3814。作为对照,将 pL6*gus* 质粒也导入 8004 菌株,获得 8004/pL6*gus* 菌株。将这些菌株在 NYGB 培养过夜后,调整细菌浓度至  $OD_{600}$  约 0.5,接种在含有 X-gluc(5-溴-4-氯-3-吲哚- $\beta$ -D-葡萄糖苷)的 MMX 平板上。培养 5 d 后,菌株 8004/pGUS3814 形成的菌落呈深蓝色,对照菌株 8004/pL6*gus* 呈无色(图 2A)。这表明报告质粒 pGUS3814 中的 *XC3814* 启动子能驱动 *gusA* 基因的表达,产生了  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶。而 190A10/pGUS3814 菌株形成的菌落仅呈淡蓝色,这表明 pGUS3814 报告质粒在 *XC3882* 突变体背景下的表达水平远低于在野生型背景下的表达水平。

为进一步定量比较 pGUS3814 在野生型和 *XC3882* 突变体背景下 *gusA* 基因的表达水平,本研究将菌株接种在含有 2% 葡萄糖的 NYGB 中,培养 36 h 后测定菌株的 Gus 活性,并以突变体 190A10 和 8004/pL6*gus* 菌株为对照,结果见图 2B。扣除对照菌株 190A10 和 8004/pL6*gus* 的本底值后, pGUS3814 中的 *gusA* 基因表达水平在 *XC3882* 突变体背景下与在野生型背景相比,降低了 81.3%。这表明 *XC3882* 的失活明显降低 *XC3814* 的表达水平。

### 3 讨论

在以前的工作中,我们从 *Xcc*8004 菌株中鉴定了一簇新的致病相关基因 *XC3813*~*3815*,这 3 个基因分别突变后,所衍生的突变体基本丧失致病性,并且突变体的胞外多糖合成产量大幅降低<sup>[5]</sup>。根据基因组的注释, *XC3813* 和 *XC3815* 分别编码一个保守性的假设蛋白, *XC3814* 编码一个可能与脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)合成相关蛋白<sup>[16]</sup>。但我们采用 SDS-PAGE 凝胶电泳分析比较了这 3 个基因的突变体与野生型菌株的 LPS 的图谱,并没有发现这 3 个基因与细胞合成 LPS 有关<sup>[5]</sup>。目前有关该簇基因的知识仍十分贫乏。为深入了解该簇基因的表达调控,

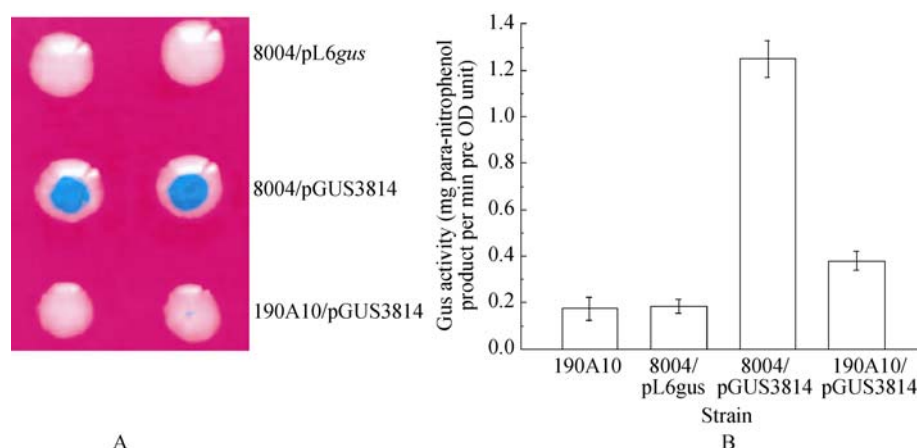


图 2 pGUS3814 报告质粒在不同背景下的表达

A: 菌株接种在含 X-gluc 的 MMX 平板上, 培养 5 d; B: 菌株接种在含 2% 葡萄糖的 NYGB 培养基, 摇瓶培养 36 h 后测定 GUS 活性。

本研究首先选择 *XC3814* 来鉴定和分析其上游调控基因。通过将 *XC3814* 的启动子与蔗糖敏感型 *sacB* 基因编码区融合, 构建报告质粒并导入 *Xcc* 野生菌株 8004, 然后利用转座子 *EZ::Tn5* 对 *Xcc* 基因组进行随机诱变, 成功地鉴定了 *Xcc* 基因组中编号为 *XC3882* 的 ORF 与 *XC3814* 的表达有关。本研究的结果为今后研究和了解 *XC3814* 的功能及其表达调控打下了基础, 同时也为我们今后研究 *Xcc* 中其它具有重要功能的基因如 *XC3813*、*XC3815* 等的表达调控提供了工作方法和思路。

根据基因组注释, *XC3882* 编码的产物为功能未知的假设蛋白<sup>[16]</sup>。近年来, 微生物全基因组测序及分析的结果发现, 在单细胞微生物中, 有 30%~50% 的 ORF 编码产物功能未知, 因而被注释为编码保守性的假定蛋白基因。这些 ORF 是否真的编码蛋白质产物, 这些产物的生理生化功能又是什么等问题是目前功能基因组学研究的主要内容。我们利用 BlastX 程序 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 对 NCBI 的数据库进行搜索, 发现已完成全基因组测序的十字花科黑腐病菌的 ATCC33913 菌株编号为 *XCC3810* (NP\_639155) 的基因和 B100 菌株编号为 *xccb100\_3994* (YP\_001905399) 的基因与 *XC3882* 同源, *XC3882* 演绎的氨基酸序列与这两个基因演绎的氨基酸序列的一致性达 100%。此外, 数据库中仅有辣椒斑点病菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) 的 *XCV3984* (YP\_365715) 和柑桔溃疡病菌 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*) 的 *XAC3865* (NP\_644171) 与 *XC3882*

有较高的同源性, *XC3882* 编码产物与 *XCV3984* 编码产物的一致性和相似性分别是 84% 和 94%, 与 *XAC3865* 编码产物则分别是 83% 和 93%。采用 SMART 程序 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 分析 *XC3882* 所编码的蛋白质的结构域, 发现该蛋白有两个跨膜区, 分别位于第 59~81 和 91~113 的氨基酸序列之间, 这表明 *XC3882* 可能编码一个细胞膜蛋白。但要证实 *XC3882* 编码产物是否膜蛋白, 以及弄清楚它是如何影响 *XC3814* 表达的等问题需要进一步深入研究。

## 参考文献 (References):

- [1] Dow JM, Daniels MJ. Pathogenicity determinants and global regulation of pathogenicity in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. In: Dangel JL, ed. Molecular and Cellular Mechanisms in Bacterial Pathogenesis of Plants and Animals. Berlin: Springer Publishing, 1994, 29–41.
- [2] Yun MH, Torres PS, El Oirdi M, Rigano LA, Gonzalez-Lamothé R, Marano MR, Castagnaro AP, Dankert MA, Bouarab K, Vojnov AA. Xanthan induces plant susceptibility by suppressing callose deposition. *Plant Physiol*, 2006, 141(1): 178–187. [\[DOI\]](#)
- [3] Alvarez AM. Black rot of crucifers. In: Slusarenko AJ, Fraser RSS, van Loon LC, eds. Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Dordrecht: Kluwer Publishing, 2000, 21–52.
- [4] Kennedy JF, Bradshaw IJ. Production, properties and applications of xanthan. In: Bushell ME, eds. Progress in Industrial Microbiology. Netherlands: Elsevier/North-

- Holland Publishing, 1984, 19: 319–371.
- [5] Lu GT, Ma ZF, Hu JR, Tang DJ, He YQ, Feng JX, Tang JL. A novel locus involved in extracellular polysaccharide production and virulence of *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris*. *Microbiology*, 2007, 153(3): 737–746. [\[DOI\]](#)
- [6] 陆光涛, 彭方印, 李彩月, 唐永勤, 安世琦, 何勇强, 唐纪良. 野油菜黄单胞菌 *XC3813-3815* 基因启动子的定位分析. *广西农业生物科学*, 2008, 27(2): 104–109.
- [7] Yanisch-Perron C, Vieira J, Messing J. Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene*, 1985, 33(1): 103–119. [\[DOI\]](#)
- [8] Boyer HW, Roulland-Dussoix D. A complementation analysis of the restriction and modification of DNA in *Escherichia coli*. *J Mol Biol*, 1969, 41(3): 459–472. [\[DOI\]](#)
- [9] Daniels MJ, Barber CE, Turner PC, Sawczyk MK, Byrde RJW, Fielding AH. Cloning of genes involved in pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* using the broad host range cosmid pLAFR1. *EMBO J*, 1984, 3(13): 3323–3328.
- [10] Huynh TV, Dahlbeck D, Staskawicz BJ. Bacterial blight of soybean: regulation of a pathogen gene determining host cultivar specificity. *Science*, 1989, 245(4924): 1374–1377. [\[DOI\]](#)
- [11] Leong SA, Ditta GS, Helinski DR. Heme biosynthesis in *Rhizobium*. Identification of a cloned gene coding for delta-aminolevulinic acid synthetase from *Rhizobium meliloti*. *J Biol Chem*, 1982, 257(15): 8724–8730.
- [12] 姜伯乐, 李凯, 张霞, 岑卫健, 赵宇, 何勇强, 唐纪良. 一个可用于鉴定野油菜黄单胞菌正向调控 *hrpX* 基因的报告质粒的构建. *广西农业生物科学*, 2008, 27(1): 19–24
- [13] Sambrook J, Russe DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001.
- [14] Turner P, Barber C, Danniels M. Behaviour of the transposons Tn5 and Tn7 in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Mol Gen Genet*, 1984, 195: 101–107. [\[DOI\]](#)
- [15] Henderson RF, Benson JM, Hahn FF, Hobbs CH, Jones RK, Mauderly JL, McClellan RO, Pickrell JA. New approaches for the evaluation of pulmonary toxicity: bronchoalveolar lavage fluid analysis. *Fundam Appl Toxicol*, 1985, 5(3): 451–458. [\[DOI\]](#)
- [16] Qian W, Jia Y, Ren SX, He YQ, Feng JX, Lu LF, Sun Q, Ying G, Tang DJ, Tang H, Wu W, Hao P, Wang L, Jiang BL, Zeng S, Gu WY, Lu G, Rong L, Tian Y, Yao Z, Fu G, Chen B, Fang R, Qiang B, Chen Z, Zhao GP, Tang JL, He C. Comparative and functional genomic analyses of the pathogenicity of phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Genome Res*, 2005, 15(6): 757–767. [\[DOI\]](#)

## • 综合信息 •

### 《遗传》影响因子首次超过 1.0

2009 年 12 月 22 日, 清华大学中国学术期刊(光盘版)电子杂志社中国科学文献计量评价研究中心发布了“中国科技期刊影响因子年报(2009 版)”。2008 年度《遗传》的总被引频次为 1897, 影响因子为 1.042。在 88 种生物科学期刊中,《遗传》的影响因子排名第 10 位。详见下表, 仅供参考:

学科排序	刊 名	影响因子	学科排序	刊 名	影响因子
1	植物生态学报	1.840	14	兽类学报	0.891
2	生物多样性	1.824	15	微生物学报	0.878
3	应用生态学报	1.782	16	生物工程学报	0.874
4	生态学报	1.755	17	植物研究	0.868
5	生态学杂志	1.387	18	昆虫学报	0.868
6	植物学通报	1.223	19	天然产物研究与开发	0.856
7	西北植物学报	1.154	20	水生生物学报	0.821
8	植物生理与分子生物学报	1.108	21	应用与环境生物学报	0.809
9	遗传学报	1.078	22	病毒学报	0.772
10	<b>遗传</b>	1.042	23	古脊椎动物学报	0.760
11	植物资源与环境学报	1.014	24	昆虫知识	0.756
12	动物学报	0.990	25	微生物学通报	0.746
13	植物遗传资源学报	0.930	26	生理学报	0.741