植物学通报 *Chinese Bulletin of Botany* 2008, **25** (5): 526–532, www.chinbullbotany.com

·研究论文·

壳寡糖对烟草悬浮细胞茉莉酸合成基因转录的影响

王文霞[1, 2], 李曙光[1], 赵小明[1], 林炳承[1], 杜昱光[1*]

[1] 中国科学院大连化学物理研究所, 大连 116023; [2] 中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要 采用RT-PCR方法研究了不同浓度壳寡糖对烟草悬浮细胞茉莉酸合成酶基因的转录调控。结果表明, 50 μg·mL^{-1}壳寡糖能够明显诱导烟草悬浮细胞茉莉酸合成途径的关键酶——磷脂酶A_2、13-脂氧合酶、丙二烯氧化物合成酶、丙二烯氧化物环化酶和12-氧-植物二烯酸还原酶基因的表达, 而且该浓度的壳寡糖对这些基因的诱导作用相同(似)。在实验设定时间内均诱导表达编码磷脂酶A_2的基因, 对其它基因的诱导时间均为8小时, 表明50 μg·mL^{-1}壳寡糖在诱抗过程中启动了茉莉酸合成途径。而200 μg·mL^{-1}壳寡糖的处理对这些基因的表达无显著影响。表明不同浓度的壳寡糖对烟草悬浮细胞的作用模式存在差异, 且高浓度的壳寡糖在烟草悬浮细胞中启动的信号通路可能没有茉莉酸信号的参与。

关键词 诱导抗病性, 茉莉酸, 壳寡糖, 烟草悬浮细胞

王文霞, 李曙光, 赵小明, 林炳承, 杜昱光 (2008). 壳寡糖对烟草悬浮细胞茉莉酸合成基因转录的影响. 植物学通报 **25**, 526-532.

茉莉酸(jasmonic acid)是一种植物激素, 广泛存在于植物界, 具有多种生物学功能(Creelman and Mullet, 1997; Halim et al., 2006)。植物受到昆虫或食草动物攻击、机械伤害、病原菌感染时, 体内的茉莉酸含量显著增加(Ziegler et al., 2001; Wasternack et al., 2006), 继而作为信号分子, 引发诱导性系统抗病(induced systemic resistance, ISR)。茉莉酸是由亚麻酸(linolenic acid)经十八碳途径(octadecanoid pathway)合成而来。亚麻酸在13-脂氧合酶(13-lipoxygenase, 13-LOX)的作用下, 在碳链的13位置上加分子氧, 生成氢过氧化亚麻酸, 再在丙二烯氧化合酶(allene oxide synthase, AOS)的作用下, 生成不稳定的环化物, 该环化物再由丙二烯氧化环化酶(allene oxide cyclase, AOC)作用生成12-氧-植物二烯酸(12-oxo-phytodienoic acid, 12-OPDA), 之后12-氧-植物二烯酸还原酶(12-oxo-phytodienoic acid reductase, OPR)催化12-OPDA加氢生成OPC-8:0(3-oxo-2-[2-pentenyl]-cyclopentane-1-octanoic acid), 再经过3次β-氧化代谢为茉莉酸(Weber, 2002; 吴劲松和种康, 2002)。许多逆境因子都可以诱导茉莉酸合成过程中酶的表达, 同时研究表明这些酶的上调和茉莉酸的累积密切相关(Dhondt et al., 2000; Halitschke and Baldwin, 2003; Stenzel et al., 2003; Mei et al., 2006; Tani et al., 2007)。因此对茉莉酸合成相关酶的研究也可以反映出逆境对茉莉酸途径的调控。

寡糖作为植物免疫激活因子的研究始于20世纪60年代。1976年Ayers等(1976)发现细胞壁的寡糖碎片能诱导植物植保素(phytoalexin)的合成。1985年Darvill及其同事发现霉菌细胞壁片段β-葡聚糖能够激活植物抗性反应, 并且首次提出了寡糖素(oligosaccharins)这个新概念, 他们认为寡糖素可以激活植物的免疫系统, 诱导植物对逆境产生抗性(Darvill et al., 1985)。壳寡糖是氨基葡萄糖以β-1, 4-糖苷键连接而成的碱性寡糖, 由几丁质脱乙酰基后, 酸解或酶解得到。壳寡糖在植物病害防治上具有抑制病原菌侵染、诱导植保素生成及激发植物自身抗性等作用(Hadwiger et al., 1994; Khan et al., 2003; Cabrera et al., 2006), 因此也是应用最广泛的寡糖素之一。本实验室应用酶解反应膜分离耦合技术制备得到壳寡糖(Zhang et al., 1999), 聚合度为2-10, 经大田试验发现对多种植物病害有明显的控制作用。进一步对其作用机理进行研究发现, 烟草细胞壁及

收稿日期: 2007-12-20; **接受日期**: 2008-04-10

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(No.KSCX2-YW-N-007)和863计划(No.2006AA10A213和No.2007AA091600)

* **通讯作者**。E-mail: dyguang@gmail.com

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-461

质膜上有壳寡糖的结合位点, 壳寡糖可以诱导过氧化氢和一氧化氮等信号分子的产生, 激活 MAPK 途径, 上调抗性相关酶的活性(Feng et al., 2006; Yin et al., 2006; Zhang et al., 2007; Zhao et al., 2007)。已有研究证明茉莉酸在植物逆境信号转导过程中发挥着重要作用。本实验室曾用寡糖处理烟草使其体内茉莉酸含量升高。本研究进一步探讨了壳寡糖在转录水平上对茉莉酸合成相关基因的调控作用, 以期阐明壳寡糖的诱抗机理。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 悬浮细胞培养

枯斑三生烟草(*Nicotiana tabacum* var. *samsun NN*)悬浮细胞在 MS 液体培养基(3% 蔗糖, 0.5 μg·mL^{-1} 2, 4-D)中继代培养。每 14 天继代 1 次, 摇床转速每分钟 120 转, 培养温度 25°C, 12 小时光照, 光照强度为 36 mol·m^{-2}·s^{-1}。细胞培养 12 天后, 过滤收集, 重新悬浮于新鲜培养基中。所有的操作均在无菌条件下进行。

1.1.2 药剂

壳寡糖(oligochitosan), 脱乙酰度>95%, 聚合度为 2-10, 由中国科学院大连化学物理研究所1805组研制, 配制成浓度为 50 mg·mL^{-1} 的溶液。通过 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌。

1.1.3 分子试剂

RNAISO、rTaq 酶和 RNA PCR KIT(AMV) Ver.3.0 试剂盒均购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 RNA 提取及检验

烟草悬浮细胞分别用 50 和 200 μg·mL^{-1} 壳寡糖处理 30 分钟后, 过滤收集, 重新悬浮于新鲜培养基中, 再分别于处理后 1、8 和 12 小时过滤收集, 对照细胞加无菌水, 操作步骤相同。所有的过程都在无菌条件下进行。取悬浮细胞在液氮中研磨, 用 RNAISO(Takara)试剂提取 RNA。(1)分光光度法定量。分别测定 260 和 280 nm 处的吸光值, 计算 A_{260}/A_{280} 比值以估计总 RNA 的纯度。通过 A_{260} 的值计算总 RNA 的量。(2) RNA 完整性检测。在 1% 琼脂糖凝胶上分离总 RNA, 有 2 条清晰的条带, 且大分子量(28S rRNA)的亮度约为小分子量(18S rRNA)的 2 倍, 说明总 RNA 完整。

1.2.2 引物设计和目的基因的 RT-PCR 扩增

实验设计引物对见表 1。利用 Takara 的 *rTaq* 酶进行 PCR 扩增, 1% 琼脂糖电泳检测。以烟草 *Actin* 基因作为内标。PCR 扩增条件: 95°C 变性 5 分钟; 95°C 30 秒, 50-60°C 30 秒, 72°C 1 分钟, 25-30 个循环; 72°C 延伸 10 分钟。取 10 μL RT-PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶上电泳检测。

表 1 引物列表

Table 1 The primers used in the experiments

No.	Primer sequences(5'-3')	Optimal cycle number	Annealing temperature(°C)	Genbank No.
1. Primers for tobacco *NTPAT3* gene	AGCTTGGTGAGGAGGGTCACA CCTCTCCAGTCAAATTGTCGTC	25	50	AF158253
2. Primers for tobacco *LOX* gene	AATCAGGCTTATCTACCAA GTCCTCCATGCAGTTTTA	30	50	X84040
3. Primers for tobacco *AOS* gene	CGACGGCAAGAGTTTTCC GATTTCATCACAGGCATTTTC	30	50	AJ295274
4. Primers for tobacco *AOC* gene	GCTTGAGCCAAAAGAATGT GTGTAAAATAGCTTGAAAGG	30	50	AJ308487
5. Primers for tobacco *OPR* gene	TAATGCCTGATGGAACTC GAATGTCCCCTGATACGC	30	50	AJ278332
6. Primers for tobacco *Actin* gene	GATGGTGTCAGCCACACTGTC ATGCTGCTAGGAGCCAGTGC	30	60	X69885

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-461

2 结果与分析

2.1 壳寡糖诱导*NtPAT3* mRNA水平变化

*NtPAT3*基因在烟草中的编码产物具有磷脂酶A_2的活性，被认为在茉莉酸的合成过程中起重要作用(Dhondt et al., 2000)。实验检测了浓度为50和200 μg·mL^{-1}壳寡糖处理烟草悬浮细胞后不同时间*NtPAT3*的转录水平变化，利用Image J软件计算灰度，根据*NtPAT3*/*Actin*的比值对2次RT-PCR结果进行量化。结果表明，50 μg·mL^{-1}壳寡糖处理烟草悬浮细胞1小时后，*NtPAT3*基因表达水平就被诱导提高，并在整个检测时段内持续诱导，但是与对照相比诱导强度逐渐减弱。而200 μg·mL^{-1}壳寡糖处理烟草悬浮细胞后，*NtPAT3*基因表达水平未被诱导，与对照水平相当(图1)。

2.2 壳寡糖影响茉莉酸合成途径其它酶mRNA水平变化

茉莉酸在植物体内是在一系列相关酶的作用下合成的，包括LOX、AOS、AOC和OPR。实验中测试了50和200 μg·mL^{-1}壳寡糖处理烟草悬浮细胞后这些酶在不同时间其转录水平的变化，利用Image J软件计算灰度。根据各个基因与*Actin*的比值对2次RT-PCR结果进行量化分析，发现壳寡糖对茉莉酸合成相关酶在转录水平上都有调控作用，但是对不同基因，具体的作用模式有所差异。

对于*LOX*，仅在50 μg·mL^{-1}壳寡糖处理烟草悬浮细胞后8小时，基因表达水平升高。而在其它检测时间并未被诱导。200 μg·mL^{-1}壳寡糖处理烟草悬浮细胞后，*LOX*基因表达水平在1、8和12小时均未被诱导(图2)。对照细胞中*AOS*转录水平随时间变化。壳寡糖对*AOS*在转录水平上的作用见图3。50 μg·mL^{-1}壳寡糖可以在处理烟草悬浮细胞8小时后，诱导*AOS*转录上调。而分别用2个浓度的壳寡糖处理烟草悬浮细胞1和12小时后，在转录水平上对该基因的表达有一定的抑制作用。用50 μg·mL^{-1}壳寡糖处理烟草悬浮细胞，*AOC*基因在8和12小时表达水平升高；200 μg·mL^{-1}壳寡糖可以使*AOC*基因表达水平在12小时被诱导(图4)。*OPR*基因在50 μg·mL^{-1}壳寡糖处理8小时后转录水平上调，而200 μg·mL^{-1}壳寡糖处理对该基因在转录水平上无显著调节作用(图5)。

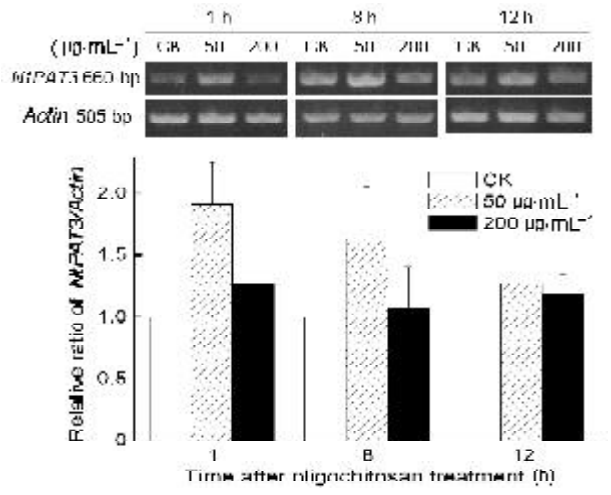

图1 壳寡糖处理后烟草悬浮细胞中*NtPAT3* mRNA水平变化

Figure 1 Regulation of the *NtPAT3* mRNA expression in tobacco suspension cells upon treatment with oligochitosan

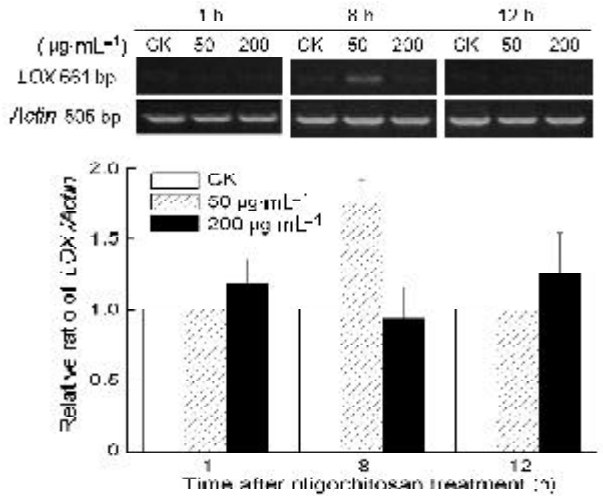

图2 壳寡糖处理后烟草悬浮细胞中*LOX* mRNA水平变化

Figure 2 Regulation of the *LOX* mRNA expression in tobacco suspension cells upon treatment with oligochitosan

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-461

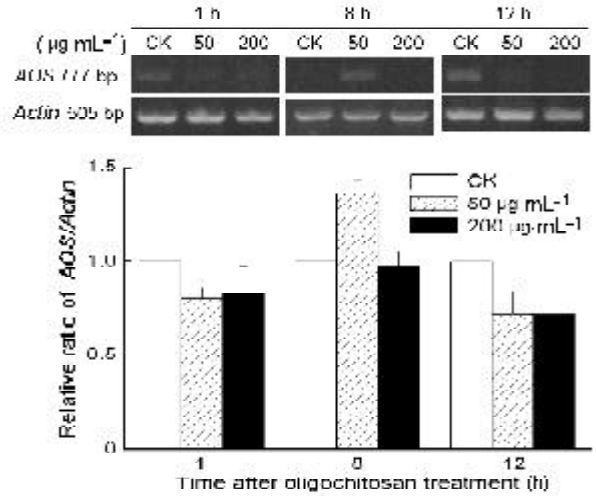

图 3　壳寡糖处理后烟草悬浮细胞中 *AOS* mRNA 水平变化

Figure 3　Regulation of the *AOS* mRNA expression in tobacco suspension cells upon treatment with oligochitosan

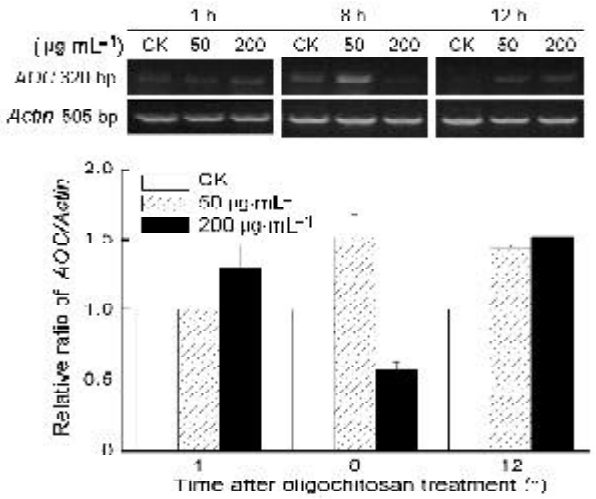

图 4　壳寡糖处理后烟草悬浮细胞中 *AOC* mRNA 水平变化

Figure 4　Regulation of the *AOC* mRNA expression in tobacco suspension cells upon treatment with oligochitosan

3　讨论

茉莉酸在植物启动抗性防御反应中发挥重要作用。当植物体内的茉莉酸累积超过一定量时, 一些抗病防御基因就会被启动表达。据报道, 低浓度的茉莉酸可诱导蛋

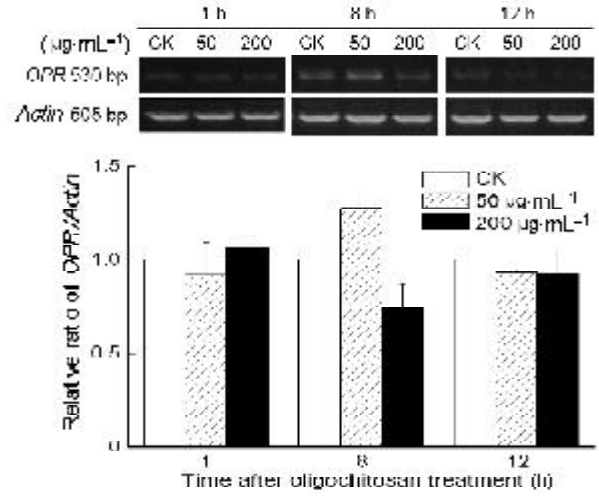

图 5　壳寡糖处理后烟草悬浮细胞中 *OPR* mRNA 水平变化

Figure 5　Regulation of the *OPR* mRNA expression in tobacco suspension cells upon treatment with oligochitosan

白酶抑制剂、硫素(thionin)**、渗调蛋白质**(osmotin)**、富含脯氨酸细胞壁蛋白质以及植保素合成过程中的关键酶, 如苯丙氨酸解氨酶**(PAL)**、查耳酮合成酶**(CHS)**等的表达。此外, 茉莉酸也可调控植物次生代谢物如生物碱类化合物、萜类化合物和酚类化合物的产生**(Gundlach et al., 1992; Farmer et al., 2003; Wasternack, 2007)**。**

壳寡糖已经被证明是一种高效的植物诱抗剂。本实验室在壳寡糖诱抗机理方面做了大量工作, 包括对结合位点、信号转导和防御酶的研究等。研究认为壳寡糖可以诱导茉莉酸的累积, 进而启动相关抗性基因的表达(Doares et al., 1995)**。本实验室用** 50 μg·mL^{-1} **壳寡糖处理烟草后, 茉莉酸含量升高(杜昱光等**, 2003)**。本研究中茉莉酸合成途径的关键酶基因在** 50 μg·mL^{-1} **壳寡糖处理后都有一定程度的诱导表达, 进一步证明壳寡糖诱抗过程中有** JA **信号的参与。提示壳寡糖的作用机理中存在以茉莉酸为代表的诱导系统获得性抗性, 这与本实验室前期的实验结果一致。**

用 50 μg·mL^{-1} **壳寡糖处理有效地提高了烟草悬浮细胞内编码这些酶基因的表达, 诱导作用相同(似)。在实验检测时间内对编码磷脂酶** A_2 **的基因持续诱导表达,**

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-461

对其它基因的诱导时间基本上都为8小时，表明信号转导过程中各个成员之间在作用时间上可能存在一定的时序性和相关性。此外，编码磷脂酶A_2的*NtPAT3*基因最初是在烟草花叶病毒侵染烟草后分离得到的，该基因在烟草产生对烟草花叶病毒的抗性中发挥作用，壳寡糖对该基因的转录调控可能是壳寡糖诱导烟草抗烟草花叶病毒的一个机制。在上述实验中还同时得到另外2个基因*NtPAT1*和*NtPAT2*(Dhondt et al., 2000)，然而壳寡糖对这2个基因并没有诱导作用，表明壳寡糖启动的烟草抗性信号通路可能和病毒自身侵染烟草引起的通路有交叉，但又不完全相同。

实验中作者观察到壳寡糖在某些时间点对一些基因的转录具有抑制作用。如50和200 μg·mL^{-1}壳寡糖在处理烟草悬浮细胞1和12小时后，对*AOS*基因的转录均有抑制作用。AOS是不饱和脂肪酸代谢为茉莉酸类化合物的关键酶，在植物体内，不饱和脂肪酸还可以在氢过氧化物裂解酶(hydroperoxide lyase, HPL)作用下生成六碳挥发物和十二碳的氧酸类化合物，或者由二乙烯醚合酶(divinyl ether synthase, DES)作用生成二乙烯醚类化合物。这几类物质在植物防御反应中都具有独特的生物活性(Blée, 2002; Howe and Schilmiller, 2002; Matsui, 2006; Eschen-Lippold et al., 2007)。植物遭遇逆境时，体内各种酶的相对表达量无疑将影响其竞争作用底物的能力，从而导致不同逆境因子作用下植物体内不饱和脂肪酸代谢物组成和含量的差异。壳寡糖对烟草中茉莉酸合成相关基因的影响是一个复杂的过程，其中对关键基因转录水平的影响可能在一定程度上反映出壳寡糖对烟草悬浮细胞中脂肪酸代谢流的控制，因此它对*AOS*转录的抑制可能是对不饱和脂肪酸代谢HPL和DES途径综合作用的结果，这有待于进一步的实验证明。

实验中2种浓度的壳寡糖处理烟草悬浮细胞后，对茉莉酸合成相关酶在转录水平上的调控作用存在差异。50 μg·mL^{-1}壳寡糖的处理有效地提高编码这些酶的基因的表达，而200 μg·mL^{-1}的壳寡糖几乎没有诱导作用。前期实验已经发现，高浓度壳寡糖可诱导烟草悬浮细胞死亡，且伴随着类似动物细胞凋亡的形态学特征(Wang et al., 2008)。Cabrera等(2006)用壳寡糖处理拟南芥悬浮细胞，发现低浓度的壳寡糖可以诱导PAL的活力升高，对细胞活力几乎没有影响；而高浓度的壳寡糖则会引起细胞死亡，并且对PAL的诱导能力下降。结合本实验结果，表明不同浓度的壳寡糖可能启动了植物不同的信号途径，低浓度的诱导胁迫会启动植物的防御途径，而对于高浓度的胁迫，细胞的应答方式则为启动自身的死亡程序。

综上所述，我们利用RT-PCR方法，在烟草悬浮细胞中探讨了不同浓度壳寡糖对茉莉酸合成途径关键基因的转录调控，推测壳寡糖可能通过激活茉莉酸途径诱导了烟草的抗性，为深入研究壳寡糖诱导抗性机制奠定了基础。

参考文献

杜昱光, 李曙光, 郭红莲 (2003). 高效液相色谱-电化学(库仑电极)阵列检测技术用于植物内源激素等小分子物质的差异显示. *色谱* **21**, 507-509.

吴劲松, 种康 (2002). 茉莉酸作用的分子生物学研究. *植物学通报* **19**, 164-170.

Ayers AR, Ebel J, Finelli F, Berger N, Albersheim P (1976). Host-Pathogen interactions: IX. Quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. *Plant Physiol* **57**, 751-759.

Blée E (2002). Impact of phyto-oxylipins in plant defense. *Trends Plant Sci* **7**, 315-321.

Cabrera JC, Messiaen J, Cambier P, van Cutsem P (2006). Size, acetylation and concentration of chitooligosaccharide elicitors determine the switch from defence involving PAL activation to cell death and water peroxide production in Arabidopsis cell suspensions. *Physiol Plant* **127**, 44-56.

Creelman RA, Mullet JE (1997). Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **48**, 355-381.

Darvill AG, Albersheim P, McNeil M, Lau JM, York WS, Stevenson TT, Thomas J, Doares S, Gollin DJ, Chelf P (1985). Structure and function of plant cell wall polysaccharides. *J Cell Sci* **2**, 203-217.

Dhondt S, Geoffroy P, Stelmach BA, Legrand M, Heitz T

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-461

(2000). Soluble phospholipase A_2 activity is induced before oxylipin accumulation in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves and is contributed by patatin-like enzymes. *Plant J* **23**, 431-440.

Doares SH, Syrovets T, Weiler EW, Ryan CA (1995). Oligogalacturonides and chitosan activate plant defensive genes through the octadecanoid pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 4095-4098.

Eschen-Lippold L, Rothe G, Stumpe M, Göbel C, Feussner I, Rosahl S (2007). Reduction of divinyl ether-containing polyunsaturated fatty acids in transgenic potato plants. *Phytochemistry* **68**, 797-801.

Farmer EE, Almeras E, Krishnamurthy V (2003). Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory. *Curr Opin Plant Biol* **6**, 372-378.

Feng B, Chen Y, Zhao C, Zhao X, Bai X, Du Y (2006). Isolation of a novel Ser/Thr protein kinase gene from oligochitosan-induced tobacco and its role in resistance against tobacco mosaic virus. *Plant Physiol Biochem* **44**, 596-603.

Gundlach H, Muller MJ, Kutchan TM, Zenk MH (1992). Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**, 2389-2393.

Hadwiger LA, Ogawa T, Kuyama H (1994). Chitosan polymer sizes effective in inducing phytoalexin accumulation and fungal suppression are verified with synthesized oligomers. *Mol Plant Microbe Interact* **7**, 531-533.

Halim VA, Vess A, Scheel D, Rosahl S (2006). The role of salicylic acid and jasmonic acid in pathogen defence. *Plant Biol* **8**, 307-313.

Halitschke R, Baldwin IT (2003). Antisense *LOX* expression increases herbivore performance by decreasing defense responses and inhibiting growth-related transcriptional reorganization in *Nicotiana attenuata*. *Plant J* **36**, 794-807.

Howe GA, Schilmiller AL (2002). Oxylipin metabolism in response to stress. *Curr Opin Plant Biol* **5**, 230-236.

Khan W, Prithiviraj B, Smith DL (2003). Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves. *J Plant Physiol* **160**, 859-863.

Matsui K (2006). Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Curr Opin Plant Biol* **9**, 274-280.

Mei C, Qi M, Sheng G, Yang Y (2006). Inducible overexpression of a rice allene oxide synthase gene increases the endogenous jasmonic acid level, *PR* gene expression, and host resistance to fungal infection. *Mol Plant Microbe Interact* **19**, 1127-1137.

Stenzel I, Hause B, Miersch O, Kurz T, Maucher H, Weichert H, Ziegler J, Feussner I, Wasternack C (2003). Jasmonate biosynthesis and the allene oxide cyclase family of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol* **51**, 895-911.

Tani T, Sobajima H, Okada K, Chujo T, Arimura SI, Tsutsumi N, Nishimura M, Seto H, Nojiri H, Yamane H (2007). Identification of the *OsOPR7* gene encoding 12-oxophytodienoate reductase involved in the biosynthesis of jasmonic acid in rice. *Planta* **227**, 517-526.

Wang W, Li S, Zhao X, Du Y, Lin B (2008). Oligochitosan induces cell death and hydrogen peroxide accumulation in tobacco suspension cells. *Pesticide Biochem Physiol* **90**, 106-113.

Wasternack C (2007). Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Ann Bot* **100**, 681-697.

Wasternack C, Stenzel I, Hause B, Hause G, Kutter C, Maucher H, Neumerkel J, Feussner I, Miersch O (2006). The wound response in tomato-role of jasmonic acid. *J Plant Physiol* **163**, 297-306.

Weber H (2002). Fatty acid-derived signals in plants. *Trends Plant Sci* **7**, 217-224.

Yin H, Li S, Zhao X, Du Y, Ma X (2006). cDNA microarray analysis of gene expression in *Brassica napus* treated with oligochitosan elicitor. *Plant Physiol Biochem* **44**, 910-916.

Zhang F, Feng B, Li W, Bai X, Du Y, Zhang Y (2007). Induction of tobacco genes in response to oligochitosan. *Mol Biol Rep* **34**, 35-40.

Zhang H, Du Y, Yu X, Mitsutomi M, Aiba S (1999). Preparation of chitooligosaccharides from chitosan by a complex enzyme. *Carbohydrate Res* **320**, 257-260.

Zhao XM, She XP, Du YG, Liang XM (2007). Induction of antiviral resistance and stimulary effect by oligochitosan in tobacco. *Pesticide Biochem Physiol* **87**, 78-84.

Ziegler J, Keinanen M, Baldwin IT (2001). Herbivore-induced allene oxide synthase transcripts and jasmonic acid in *Nicotiana attenuata*. *Phytochemistry* **58**, 729-738.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-461

Effects of Oligochitosan on Transcription of Genes Involved in Jasmonic Acid Biosynthesis in Tobacco Suspension Cells

Wenxia Wang[1,2], Shuguang Li[1], Xiaoming Zhao[1], Bingcheng Lin[1], Yuguang Du[1*]

[1]*Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China*
[2]*Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*

Abstract Oligochitosan prepared by enzymatic hydrolysis of chitosan is a potent plant defense elicitor, but the mechanism of oligochitosan inducing resistance of plants to pathogens is still unclear. In this study, we applied different concentrations of oligochitosan to tobacco suspension cells to investigate the change in gene expression involved in jasmonic acid biosynthesis. Semi-quantitative RT-PCR revealed that 50 μg·mL^{-1} oligochitosan up-regulated the expression of genes encoding phospholipase A_2, 13-lipoxygenase, allene oxide synthase, allene oxide cyclase and 12-oxo-phytodienoic acid reductase in a similar manner. The gene expression of phospholipase A_2 was increased over time, whereas increased expression of the other genes appeared at 8 h after treatment. These results showed that the jasmonic acid biosynthesis pathway can be triggered by 50 μg·mL^{-1}, rather than 200 μg·mL^{-1}, oligochisan suggesting that the action of oligochitosan in tobacco suspension cells was dose dependent, and that a higher concentration of oligochitosan may activate a defense response without the participation of jasmonic acid.

Keywords induced disease resistance, jasmonic acid, oligochitosan, tobacco suspension cells

Wang WX, Li SG, Zhao XM, Lin BC, Du YG (2008). Effects of oligochitosan on transcription of genes involved in jasmonic acid biosynthesis in tobacco suspension cells. *Chin Bull Bot* **25**, 526–532.

* Author for correspondence. E-mail: dyguang@gmail.com

(**责任编辑**: **白羽红**)

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-461