

氨基茛磷酸(AIP)和氨基氧乙酸(AOA)对茉莉酸甲酯诱导的烟草一些酶活性的影响

段小华 禹艳红 宾金华*

(华南师范大学生命科学学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广东广州 510631)

摘要: 用茉莉酸甲酯(MJ, 1 mg ml^{-1})处理培养在含 0.1 mmol/L AIP(水杨酸合成抑制剂)和 / 或 1 mmol/L AOA(乙烯合成抑制剂)的 MS 培养基上的烟草愈伤组织, 测定某些酶的活性。结果表明: MJ 明显提高过氧化物酶(POD)、 β 1,3- 葡聚糖苷酶和几丁质外切酶的活性, 略微促进苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)的活性, 抑制几丁内切酶的活性, 而 AOA 和 AIP 则明显抑制 MJ 对 POD 和 β 1,3- 葡聚糖苷酶活性的诱导作用, 但对 MJ 诱导的 PAL 和 PPO 的活性影响很小, AOA 和 AIP 可能作为逆境因子促进 PAL 的活性。AOA 能部分解除 MJ 对几丁内切酶的抑制作用, 但对 MJ 诱导的几丁外切酶的影响较小, 而 AIP 抑制几丁内切酶的活性, 也抑制 MJ 对此酶的诱导作用。因此我们认为: MJ 对 POD、PPO 和几丁内切酶的影响可能是通过乙烯途径, 对 β 1,3- 葡聚糖苷酶和几丁外切酶的影响可能是通过水杨酸(SA)途径, 而对 PAL 的影响可能是通过其它途径。

关键词: 烟草; 茉莉酸甲酯; 氨基茛磷酸; 氨基氧乙酸; 信号转导

中图分类号: S432.23

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)04-0345-06

Effects of Aminoxyacetic Acid (AOA) and 2-Aminoindan-2-phosphonic Acid (AIP) on the Activities of Some Enzymes Induced by Methyl Jasmonate in Tobacco Calli

DUAN Xiao-hua YU Yan-hong BIN Jin-hua*

(Department of Biology, South China Normal University, Guangdong Key Lab of Biotechnology for Plant Development, Guangzhou 510631, China)

Abstract: Tobacco calli, induced from leaf explants on MS medium supplemented with 0.2 mg L^{-1} NAA, 0.2 mg L^{-1} kinetin and 1 mg L^{-1} 2,4-D, were cultured on MS medium containing 0.1 mmol/L 2-aminoindan-2-phosphonic acid (AIP, inhibitor of phenylalanine ammonia lyase) or 1 mmol/L aminoxyacetic acid [AOA, inhibitor of ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) synthase], or 0.1 mmol/L AIP and 1 mmol/L AOA in combination. The calli were then treated with 1 mg ml^{-1} methyl jasmonate (MJ) to determine the activities of peroxidase (POD), phenylalanine ammonia lyase (PAL), β 1, 3-glucanase, polyphenol oxidase, and chitinase. The result showed that MJ markedly increased the activities of POD, β 1,3-glucanase, exochitinase and slightly increased the activities of PAL and polyphenol oxidase (PPO), while it inhibited the activity of endochitinase. AOA and AIP significantly inhibited the induction effect of MJ on the activities of POD and β 1,3-glucanase, but the induction effect of MJ on PAL and polyphenol activities was less. AOA could partially relieve the inhibition effect of MJ on endochitinase, but had less effect on MJ-induced exochitinase activity. AIP inhibited the activity of endochitinase and the induction effect of MJ as well. It is inferred that the effect of MJ on POD, PPO and endochitinase may be through the signal transduction of ethylene, and on β 1,3-glucanase and exochitinase through salicylic acid, while on PAL there exists

收稿日期: 2003-05-20 接受日期: 2003-09-05

基金项目: 广东省自然科学基金(940721, 990461)资助

* 通讯作者 Corresponding author

致谢: B. mauch-mani 教授赠送药品 AIP, 在此表示衷心的感谢。

another pathway.

Key words: Tobacco; Methyl jasmonate; 2-Aminoindan-2-phosphonic acid; Aminoxyacetic acid; Signal transduction

在与病原微生物相互作用中,植物为了抵御病原菌的侵染而产生一系列的防御反应,如离子渗漏、氧化猝发、过敏反应、防御基因的诱导启动、植保素和病原相关蛋白合成以及胞壁木质化加固、伤口栓质化等等^[1-3]。在一些抗病反应中,与抗病相关的酶,如苯丙氨酸解氨酶、过氧化物酶、多酚氧化酶、 β 1,3-葡聚糖苷酶,几丁酶等起着重要作用^[4,5]。茉莉酸(jasmonic acid, JA)和茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MJ)是新发现的一类植物内源激素,在植物体内具有重要的生理作用^[6]。植物经 MJ 处理可诱导上述抗病相关酶活性的产生^[7]。一些研究认为 MJ、水杨酸(SA)以及乙烯都可作为抗病反应中的信号分子^[3-5]。但目前对三者抗病信号传递中的作用缺乏统一的认识,它们的关系不清楚。我们应用 SA 和乙烯合成专一性抑制剂处理烟草愈伤组织,以探讨 SA 和乙烯对 MJ 诱导的抗病相关酶活性的影响。

1 材料和方法

材料处理 供试烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 为巴西品种,由广东省农业科学研究院旱地作物研究所烟草室周会光先生馈赠。取嫩叶在 MS+NAA 0.2 mg L⁻¹+KT 0.2 mg L⁻¹+2,4-D 1 mg L⁻¹ 培养基上诱导愈伤组织。MJ 购自日本 ZEON 公司,使用浓度为 1 mg ml⁻¹。选长势良好的烟草愈伤组织,分别转移到含 0.1 mmol/L AIP(2-aminoindan-2-phosphonic acid, 水杨酸合成专一性抑制剂)、1 mmol/L AOA (Aminoxyacetic acid, 乙烯合成专一性抑制剂)、及 0.1 mmol/L AIP 和 1 mmol/L AOA 的 MS 培养基上后,用 1 mg ml⁻¹ MJ 溶液喷洒处理愈伤组织(用量为 1 ml (15 g)⁻¹FW, 由于 MJ 具有挥发性,而且在培养瓶中用量不能多,因而实验中所用浓度稍高)。以不含抑制剂的 MS 培养基上培养的愈伤组织为对照,用无菌水或 MJ 溶液处理,25±2°C 中暗培养。处理 2-10 d 取愈伤组织保存于 -80°C 冰箱中备用。

过氧化物酶(Peroxidase, POD)的测定 按 1:4 (w/v) 向材料中加入磷酸缓冲液 (pH7.8, 50 mmol/L), 充分研磨,匀浆液以 15 300×g 离心 10 min, 上清液即为粗酶液。酶活性测定参照张志良^[11]的方法,3 ml 反应液中包括:0.1 ml 愈创木酚

(4.0%), 0.1 ml H₂O₂ (0.46%), 2.75 ml PBS 和 50 μ l 粗酶液。在 470 nm 处测定 OD 值的变化。以 PBS 为对照。酶活性定义为每分钟增加 0.01 OD 值所需的酶量为一个活性单位(U)。

苯丙氨酸解氨酶(PAL)的测定 按 1:2(w/v) 向材料中加入硼酸缓冲液 (pH8.8 10 mmol/L, 内含 5 mmol/L 巯基乙醇), 充分研磨,匀浆液以 13 400×g 离心 10 min, 上清液即为粗酶液。酶活性的测定参照 Hyodo 等^[12]的方法,反应液包括:0.3 ml 粗酶液, 0.3 ml L- 苯丙氨酸 (50 mmol/L, 用硼酸缓冲液配制), 1 ml H₂O。于 40°C 恒温水浴保温 2 h, 然后加 6 ml H₂O₂, 在 290 nm 处比色测定。空白不加底物。

β 1,3- 葡聚糖苷酶(1,3-glucanase)的测定 参照《现代植物生理学指南》^[13]。按 1:5(w/v) 向材料中加入 0.05 mol/L 的乙酸钠缓冲液 (pH5.0), 充分研磨,于 15 000×g 离心 15 min 后,将上清液置透析袋中,用提取液 4°C 下透析过夜。经离心上清液即为粗酶液。取 0.4 ml 的 1 mg ml⁻¹ 昆布多糖,加入 0.1 ml 酶液,于 37°C 保温 15 min, 立即加入 0.5 ml 铜试剂,混匀,并于 100°C 水浴 10 min, 置冷水中冷却,再加入 0.5 ml 砷钼酸试剂,呈蓝色后加蒸馏水 3.5 ml, 660 nm 处比色测定,对照标准曲线求出样品液中的还原糖量。酶活性表示为 μ g sucrose g⁻¹ FW min⁻¹。

多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)的测定 参照《现代植物生理学指南》^[13]。按 1:5(w/v) 向材料中加入 0.05 mol/L 的磷酸缓冲液 (pH5.5), 充分研磨,于 10 000×g 离心 15 min 后,上清液即为粗酶液。含 3.9 ml 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (pH5.5), 1.0 ml 0.1 mol/L 儿茶酚和 0.1 ml 酶液的反应体系,于 37°C 中保温 10 min, 迅速放入冰浴中,立即加入 2 ml 20% 三氯乙酸,以 5 000×g 离心 10 min, 上清液于 525 nm 下测定其光密度。以煮过失活的酶液为对照。酶活性定义为每分钟内 OD₅₂₅ 值变化 0.01 为一个酶活力单位。

几丁质酶(chitinase)的测定 几丁质酶的制备参照 Berger^[15]的方法,几丁质由中国科学院广州化学研究所提供。底物浓度 10 mg ml⁻¹。按 1:4(w/v) 向材料中加入乙酸钠缓冲液 (50 mmol/L pH5.0), 充分研磨,匀浆液以 12 000×g 离心 10 min, 上清液即为粗酶液。酶活性的测定参照 Boller 等^[14]的方法。总酶活性:反应液包括 0.3 ml 底物,1 ml 乙酸钠缓冲液,

0.1 ml 粗酶液。置 40℃ 恒温水浴 4 h, 100℃ 沸水浴灭活 3 min, 10 000×g 离心 10 min。取上清液 0.4 ml, 加入 0.1 ml 蜗牛酶(1%), 置 37℃ 恒温水浴 30 min, 以水解几丁质寡糖, 在 585 nm 处比色测定。对照是加粗酶液后立即灭活处理, 其余步骤相同。几丁外切酶活性的测定: 与几丁质酶总活性的测定方法基本相同, 只是加入的蜗牛酶已经灭活处理。几丁内切酶活性的测定: 同样测定条件下, 几丁质酶总活性与相应的几丁外切酶活性之差。酶活性定义为 OD 值每增加 0.001 所需的酶量为一个活性单位。

2 结果

2.1 AOA 和 AIP 对 MJ 诱导的 POD 活性的影响

如图 1 所示, 对照中烟草愈伤组织的 POD 活性略为下降, 6 d 和 8 d 的酶活性与 0 d 相近, 但 10 d 后的酶活性明显降低; 而 MJ 处理明显促进 POD 的活性。MJ+AOA 处理的酶活性开始略为下降, 4 d 后急剧上升, 但仍低于 MJ 处理。MJ+AIP 处理 6 d 前的酶活性与 MJ 处理一致, 此后的 POD 活性明显降低, 但仍比对照高。MJ+AOA+AIP 的处理完全消除了 MJ 对 POD 的诱导作用, 其酶活性略低于对照(图 1)。表明 AOA 对 MJ 诱导作用具有抑制效应, 而 AIP 的影响不明显。

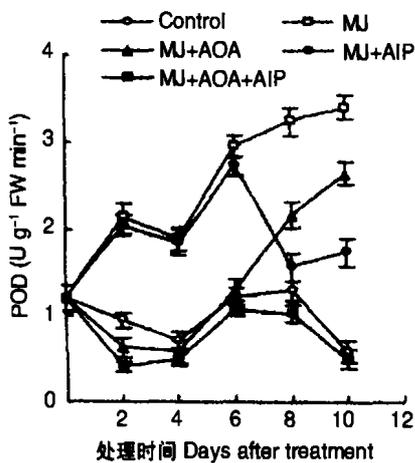


图 1 AOA 或 / 和 AIP 对 MJ 诱导的烟草愈伤组织 POD 活性的影响

Fig. 1 Effect of AOA and/or AIP on MJ-induced POD activity in tobacco calli

2.2 AOA 和 AIP 对 MJ 诱导的 PPO 活性的影响

对照烟草愈伤组织的 PPO 活性明显增加, 4 d 达到最大值, 然后逐渐降低, 但仍比 0 d 高。MJ 处理后的酶活性变化与对照基本一致, 4-10 d 酶活性略

高于对照(图 2), 表明 MJ 在处理较长时间后才促进 PPO 的活性。MJ+AOA 处理的酶活性变化与 MJ 处理的相似, 但酶活性低; 而 MJ+AIP 处理 4 d 的酶活性比对照和 MJ 处理的低, 6 d 后则高于它们。MJ+AOA+AIP 处理的酶活性开始时迅速上升, 接着下降, 4 d 时介于 MJ+AOA 与 MJ+AIP 处理之间(图 2)。表明 AOA 抑制 MJ 的诱导作用, AIP 在后期促进此酶的活性。总的来看, MJ 对 PPO 活性的影响并不明显, AOA 和 AIP 的影响也不明显。

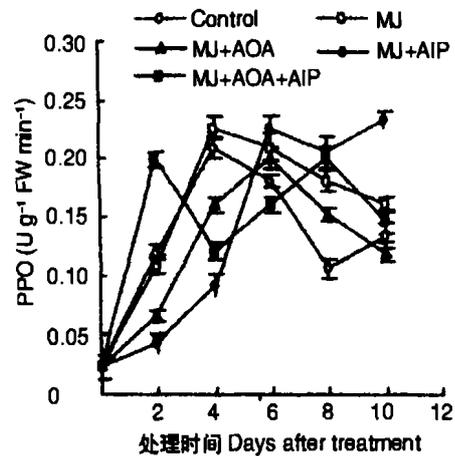


图 2 AOA 或 / 和 AIP 对 MJ 诱导的烟草愈伤组织 PPO 活性的影响

Fig. 2 Effect of AOA and/or AIP on MJ-induced PPO activity in tobacco calli

2.3 AOA 和 AIP 对 MJ 诱导的 PAL 活性的影响

从图 3 可见, 对照烟草愈伤组织的 PAL 活性略微降低, 而 MJ 处理后其 PAL 活性在 4 d 前逐渐提高, 随后下降; 添加 AOA 和 / 或 AIP 处理的 PAL 活性均高于 MJ 处理, 其中两种抑制剂同时处理的酶活性最高(图 3)。表明 AOA 和 AIP 促进 MJ 诱导的愈伤组织的 PAL 活性或对 PAL 活性有直接的刺激作用, 且两者具有协同效应。

2.4 AOA 和 AIP 对 MJ 诱导的 β 1,3- 葡聚糖苷酶的影响

从图 4 可见, 对照烟草愈伤组织的 β 1,3- 葡聚糖苷酶活性逐渐增加, MJ 处理后的酶活性急剧上升, 处理 2 d 后达到最大值, 随后逐渐下降, 6 d 后又稍有回升(图 4)。这表明 MJ 处理能迅速提高此酶的活性。MJ+AOA 处理后的酶活性开始增加, 第 4 天达到最大值, 但低于 MJ 处理的最大值, 8 d 仍有较高活性。MJ+AIP 处理明显抑制此酶活性, 6-8 d 酶

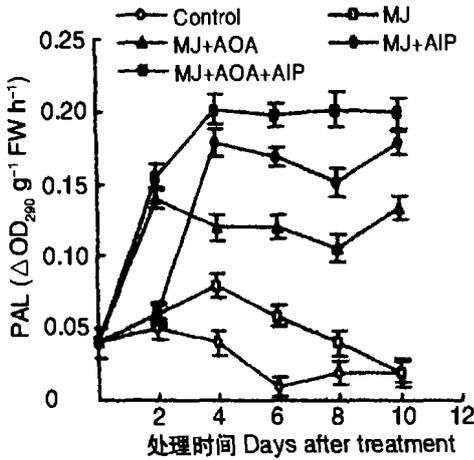


图 3 AOA 或 / 和 AIP 对 MJ 诱导的烟草愈伤组织 PAL 活性的影响

Fig. 3 Effect of AOA and /or AIP on MJ-induced PAL activity in tobacco calli

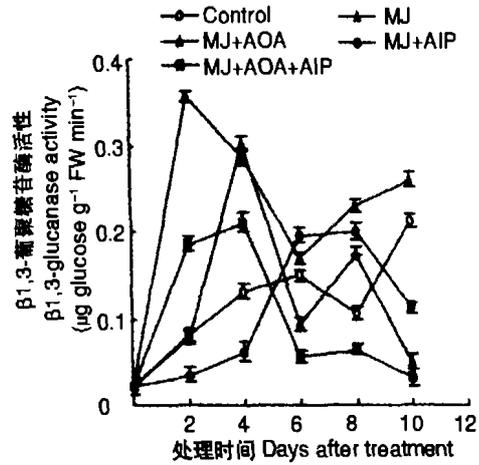


图 4 AOA 或 / 和 AIP 对 MJ 诱导的烟草愈伤组织 beta 1,3-葡聚糖苷酶活性的影响

Fig. 4 Effect of AOA and /or AIP on MJ-induced beta 1,3-glucanase activity in tobacco calli

活性有一些恢复,随后下降。MJ+AOA+AIP 处理的酶活性开始略为上升,4 d 后迅速下降,且低于 MJ+AOA 和 MJ+AIP 处理(图 4)。表明 AIP 明显抑制 MJ 对此酶的诱导作用,而 AOA 只是延缓活性下降的出现和有轻微的抑制作用。

2.5 AOA 和 AIP 对 MJ 诱导的几丁质酶的影响

对照烟草愈伤组织的几丁内切酶活性初期略微下降,接着迅速上升,第 6 天达到最大值,然后略微下降,与严文文的研究结果不一致^[3],这可能是材料的生理状态不同所致。MJ 处理明显抑制此酶的活性,MJ+AOA 处理后此酶活性迅速上升,2 d 达到最大值,然后逐渐下降,但仍比 MJ 处理的高;MJ+AIP 处理的抑制作用比 MJ 处理的抑制作用更强,但 MJ+AOA+AIP 处理的酶活性开始略微增强,

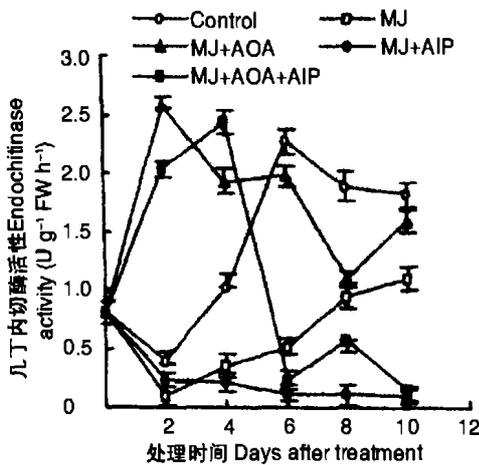


图 5 AOA 或 / 和 AIP 对 MJ 诱导的烟草愈伤组织几丁内切酶活性的影响

Fig. 5 Effect of AOA and /or AIP on MJ-induced endochitinase activity in tobacco calli

随后迅速下降,10 d 后的酶活性与 MJ+AIP 处理相当(图 5)。表明 AOA 能部分解除 MJ 的抑制作用,而 AIP 则抑制此酶的活性,且能部分消除 AOA 对 MJ 的解除作用。

对照烟草愈伤组织的几丁外切酶的活性迅速下降,MJ 处理后的酶活性上下波动,表明 MJ 能维持此酶活性。MJ+AOA 处理的酶活性与 MJ 处理相似。MJ+AIP 处理和 MJ+AOA+AIP 处理酶活性的变化与对照类似(图 6)。表明 AOA 对 MJ 的诱导作用影响较小,而 AIP 则可完全消除 MJ 的诱导作用。

3 讨论

外源 JA 及 MJ 能够诱导一些抗病防卫反应的关键酶,从而启动防御反应。有不少研究表明,乙

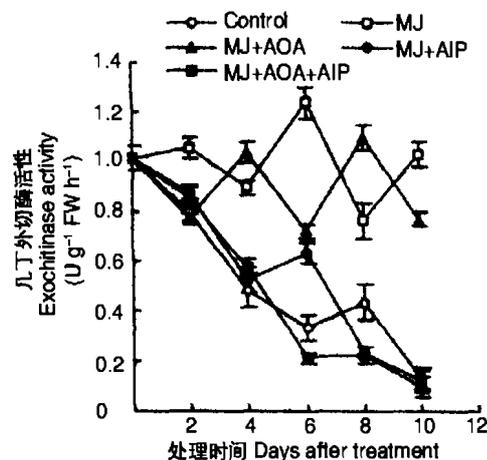


图 6 AOA 或 / 和 AIP 对 MJ 诱导的烟草愈伤组织几丁外切酶活性的影响

Fig. 6 Effect of AOA and /or AIP on MJ-induced exochitinase activity in tobacco calli

烯、SA 和 JA 都参与植物伤害反应的信号转导^[8-10]。但有关 SA 和乙烯在 MJ 诱导抗病相关酶中的作用的报道较少。AOA 是乙烯合成专一性抑制剂,抑制乙烯合成过程中 ACC 酶的活性^[19],AIP 是水杨酸合成专一性抑制剂,抑制水杨酸合成过程中 PAL 酶的活性^[17,19],用 30 $\mu\text{mol/L}$ 的 AIP 处理 *Salix myrsinifolia* Salisb 幼苗,芽尖水杨酸含量急剧下降^[18]。

过氧化物酶在木质素的形成中起着重要的作用^[20],与植物抗病性密切相关^[21-23]。本实验中,MJ 处理明显增强过氧化物酶的活性,从而增强抗病性,AOA 处理抑制 POD 的活性,AIP 对 MJ 的诱导作用没有影响(图 1)。表明乙烯可能在 MJ 对此酶的诱导中起信号分子的作用,乙烯可能是 MJ 的下游成分。

有报道表明,多酚氧化酶在植物抗病中具有重要的作用^[24]。杂交杨用 MJ 处理后,PPO 的 mRNA 大量表达^[25];但 MJ 处理香蕉后,PPO 活性并没有变化^[26],宾金华和潘瑞焱认为 PPO 在 MJ 诱导抗炭疽病中不起关键作用^[27],这可能是由于不同植物材料 PPO 具有不同的最适底物或具有不同的同工酶的缘故。本实验中,MJ 处理 PPO 活性只有轻微的增加,AOA 抑制 MJ 的诱导作用,而 AIP 仅在前期抑制 MJ 的诱导作用,在后期却促进 MJ 的作用,但它们的作用都不明显(图 4)。

PAL 是植物次生代谢中的关键酶,催化 L-苯丙氨酸生成一些植保素成分的前体物质如反式肉桂酸,来增强植物的抗病性^[28]。Gundlach 等发现 MJ 处理大豆悬浮培养细胞苯丙氨酸解氨酶的合成及活性有明显的促进效果^[9]。在本实验中,MJ 处理增强 PAL 的活性,这与对植株处理的研究结果相一致^[29]。但我们发现 MJ 对 PAL 的诱导可能不需要 SA 和乙烯的参与,相反,AOA 和 AIP 还有可能作为化学逆境因子促进 PAL 的活性。

β 1,3- 葡聚糖苷酶在植物抗病中的主要作用是降解病原物的细胞壁,激活其他防卫反应或通过降解植物的细胞壁,释放出抗性诱导因子^[27-29]。本实验中,AIP 对 MJ 的诱导 β 1,3- 葡聚糖苷酶有明显的抑制作用,而 AOA 的影响不明显,因而我们推测 MJ 对 β 1,3- 葡聚糖苷酶的诱导作用主要是通过 SA 来转导。

高等植物中普遍存在几丁质酶,分为内切酶和外切酶,它能抑制一些病原真菌孢子萌发和菌丝的生长,因此一直被看作是植物抗真菌病害的潜在物质。本实验中,MJ 处理抑制几丁内切酶的活性,这

与严文文等研究的结果不一致^[31],这可能是几丁酶具有同工酶现象,不同的同工酶可能有不同的活性调节方式,也可能是材料的生理状态不同。AOA 可部分解除 MJ 对几丁内切酶的抑制作用,AIP 增强 MJ 的抑制作用。表明 MJ 的抑制作用是通过乙烯途径进行的,而 AIP 可作为一种抑制因子抑制此酶活性。MJ 处理促进几丁外切酶的活性,AOA 对 MJ 作用无影响,AIP 可完全解除 MJ 的诱导作用。表明 MJ 是通过 SA 诱导此酶活性,也就是说 MJ 可能主要是通过诱导几丁外切酶的活性来增强植物的抗性。

目前发现植物体内至少存在三种抗病途径:一是由 SA 介导的系统性获得抗性 (systemic acquired resistance, SAR),抵御致病性病原物的侵害;二是由非致病性根瘤菌激发的植物诱导系统性抗性 (induced systemic resistance, ISR),其信号途径是通过 MJ 和乙烯转导的^[32];三是伤害反应途径(wound response pathway, WRP),其信号分子为 MJ 和乙烯^[33]。近期研究发现这 3 条途径不是独立的,而是通过这些信号分子相互交叉,相互影响。如拟南芥防卫素(defensin,一种抗菌多肽)基因的激活需要茉莉酸类和乙烯反应途径的相伴激活,而非先后激活^[34]。而番茄蛋白酶抑制剂基因的表达就需要乙烯和茉莉酸酯共同的调节^[34]。而 SA 可通过抑制 JA 生物合成的最后步骤从而抑制伤害反应^[35]。Lawton 等认为拟南芥获得抗性的信号转导独立于乙烯,但乙烯通过提高组织对 SA 的敏感性而在获得性抗性中起作用^[36]。从我们的实验结果来看,MJ 对过氧化物酶、多酚氧化酶和几丁内切酶的影响可能是通过乙烯途径,对 β 1,3- 葡聚糖苷酶和几丁外切酶的影响可能是通过 SA 途径,而对苯丙氨酸解氨酶的影响可能是通过其它途径。

参考文献

- [1] Sano H, Seo S, Koizumi N, et al. Regulation by cytokinins of endogenous levels of jasmonic and salicylic acids in mechanically wounded tobacco plants [J]. *Plant Cell Physiol*, 1996, 37:762-769.
- [2] Bowles D J. Defense-related proteins in higher plants [J]. *Ann Rev Biochem*, 1990, 59:959-907.
- [3] Levine A, Tenhaken R, Dixton R, et al. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease response [J]. *Cell*, 1994, 79:583-593.
- [4] Li J(李靖), Li R G(利容干), Yuan W J(袁文静). Some enzyme activity changes in cucumber leaves infected by *Pseudoperonospora cubensis* [J]. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 1991, 21(4):

- 277-283. (in Chinese)
- [5] Sehlumbaum A, Mauch F, Vogeli U. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth [J]. *Nature*, 1986, 324:365-367.
- [6] Creelman R A, Mellut J E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants [J]. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, 48: 355-381.
- [7] Farmer E E. Fatty acid signaling in plants and their associated microorganisms [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 26:1423-1437.
- [8] Ecker J R. The ethylene signal transduction pathway in plants [J]. *Science*, 1995, 26:667-675.
- [9] Durner J, Shah J, Klessig D H. Salicylic acid and disease resistance in plants [J]. *Trends Plant Sci*, 1997, 2:266-274.
- [10] Stout M J, Workman K V, Bostock R M, et al. Stimulation and attenuation of induced resistance by elicitors and inhibitors of chemical induction in tomato (*Lycopersicon esculentum*) foliage [J]. *Enomol Exp Appl*, 1998, 86:267-279.
- [11] Zhang Z L(张志良). *Experimental Direction of Plant Physiology* [M]. Second edition, Beijing: Higher Education Press, 1990. 154. (in Chinese)
- [12] Hydo H, Yang S F. Ethylene-enhanced synthesis of phenylalanine ammonia-lyase in pea seedlings [J]. *Plant Physiol*, 1971, 47:765-770.
- [13] Tang Z C(汤章城), Chen Y(陈因). *Experimental Direction of Modern Plant Physiology* [M]. Beijing: Science Press, 1999. 128, 317. (in Chinese)
- [14] Boller T, Gehri A, Mauch F, et al. Chitinase in bean leaves: Induction by ethylene, purification, properties and possible function [J]. *Planta*, 1983, 157:22-31.
- [15] Berger L R, Reynolds D M. Chitinase system of a strain of *Streptomyces grises* [J]. *Biochem Biophys*, 1958, 29:522-534.
- [16] Li M L(李明亮), Han Y F(韩一凡). Effect of ethylene on the growth and development of plants and inhibition of its biosynthesis by antisense RNA [J]. *Sci Silv Sin* (林业科学), 2000, 36(4):77-84. (in Chinese)
- [17] Zon J, Amrhein N. Inhibitors of phenylalanine ammonia-lyase: 2-aminoindan-2-phosphonic acid and related compounds [J]. *Libiags Ann Chem*, 1992, 625-628.
- [18] Teija M R, Maija-Riitta K J-T. Salicylates of intact *Salix myrsinifolia* plantlets do not undergo rapid metabolic turnover [J]. *Plant Physiol*, 2000, 122:895-905.
- [19] Willibald S, Naoko K, Dieter S. The decisive step in betaxanthin biosynthesis is a spontaneous reaction [J]. *Plant Physiol*, 1999, 119:1217-1232.
- [20] Vacne D C, Arthur R A, Jurgen E, et al. Host-pathogen interactions. X. Fractionation and biological activity of an elicitor isolated from the mycelial walls of *Phytophthora megasperma* var. *sojae* [J]. *Plant Physiol*, 1976, 57:760-765.
- [21] Guo J R(郭建荣), Luo K(罗宽). Study on induced mechanism of rice variety resistance to blast [J]. *J Hunan Agri Coll* (湖南农学院学报), 1994, 20(3):255-261. (in Chinese)
- [22] He Z H(何祖华), Shi C H(石春海), Shen Z T(申宗坦). Analysis of peroxidase isozymes on resistance and susceptibility to rice blast [J]. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 1989, 3(2):95-96. (in Chinese)
- [23] Bin J H(宾金华), Pan R C(潘瑞焱). The relationship of the disease resistance of tobacco seedlings induced by methyl jasmonate with peroxidase activity and lignin content [J]. *Chin J Appl Envir Biol*(应用与环境生物学报), 1995, (2):160-164. (in Chinese)
- [24] Mazzafera P, Robinson S P. Characterization of polyphenol oxidase in coffee [J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(4):285-296.
- [25] Onstable C P, Yip L, Patton J J, et al. Cloning and expression in response to wounding and herbivory [J]. *Plant Physiol*, 2000, 124: 285-295.
- [26] Gooding P S, Brid C, Robinson S P. Molecular cloning and characterization of fruit polyphenol oxidase [J]. *Planta*, 2001, 213: 748-757.
- [27] Bin J H(宾金华), Pan R C(潘瑞焱). The relationship of the resistance of tobacco seedlings to *Colletotrichum destructivum* O' Gara induced by methyl jasmonate with polyphenol oxidase activity [J]. *Suppl J Sunyatsen Univ* (中山大学学报论丛), 1997, (5):131-135. (in Chinese)
- [28] Bin J H(宾金华), Jiang S(姜胜), Huang S Q(黄胜琴), et al. The relationship of the resistance of tobacco seedlings to *Colletotrichum destructivum* O' Gara induced by methyl jasmonate with PAL activity and cell wall substance [J]. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 2000, 26(1):1-6. (in Chinese)
- [29] Jane K, Koukol J, Conn E E. The metabolism of aromatic compounds in higher plants [J]. *J Biol Chem*, 1961, 236(10): 2692-2698.
- [30] Gundlach H, Muller M J, Kutchan T M, et al. Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89:2389-2393.
- [31] Yan W W(严文文), Li Y F(李艳芳), He L H(贺立红), et al. The effects of caffeic acid and CoCl₂ on resistant enzymes induced by methyl jasmonate [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2003, 20(1): 67-74. (in Chinese)
- [32] Pterse C M J, Van Loon L C. Salicylic acid-independent plant defense pathways [J]. *Trends Plant Sci*, 1999, 4(2):52-58.
- [33] O'Donnell P J, Calvert C, Atzom R, et al. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants [J]. *Science*, 1996, 274:1914-1917.
- [34] Ckx I A M A, Thomma B P H J, Buchala A, et al. Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin gene in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1988, 10:2103-2113.
- [35] Peña-Cortés H. Aspirin prevents wound-induced gene expression in tomato leaves by blocking jasmonic acid biosynthesis [J]. *Planta*, 1993, 191:123-128.
- [36] Doares S H, Narvaez-Vasquez J, Conconi A. Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid [J]. *Plant Physiol*, 1995, 108:1741-1746.