

## 低聚木糖对大豆生长和花叶病毒病抗性的影响

张秀秀, 伍辉军, 周宇骋, 高学文

(南京农业大学 植物保护学院/农作物生物灾害综合治理教育部重点实验室, 江苏 南京 210095)

**摘要:**用不同浓度的低聚木糖处理大豆,研究低聚木糖对大豆生长和花叶病毒病(SMV)抗性的影响,温室实验结果表明:低聚木糖溶液处理大豆种子18 d后与对照相比,50 mg·L<sup>-1</sup>低聚木糖对大豆幼苗的株高、鲜重和主根长有明显的促进作用。低聚木糖喷雾处理大豆叶片18 h后接种SMV,与对照相比显著降低了SMV病情指数。利用Quantitative RT-PCR检测低聚木糖处理的大豆叶片中的防卫相关基因的表达情况,与对照相比,防卫基因*PR2*、*PR10*、*PR12*和*LOX2*在低聚木糖处理12 h时有最高的相对表达量;*PR3*在低聚木糖处理18 h时有最高的相对表达量;*PR1*、*PAL*、*PPO*和*CHS*在低聚木糖处理24 h时显著上调表达。研究表明,低聚木糖激活了大豆SA信号通路和JA信号通路,从而提高了大豆对SMV的抗性。

**关键词:**低聚木糖;大豆;促生;SMV抗性;Quantitative RT-PCR

**中图分类号:**S565.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2012)04-0621-04

## Effect of Xylo-oligosaccharide on Growth and Resistance to SMV in Soybean

ZHANG Xiu-xiu, WU Hui-jun, ZHOU Yu-cheng, GAO Xue-wen

(College of Plant Protection/Key Laboratory of Integrated Management of Crop Diseases and Pests, Ministry of Education, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

**Abstract:** Treated soybean with different concentrations of xylo-oligosaccharide to study the effect of xylo-oligosaccharide on growth and resistance to soybean mosaic virus (SMV) in soybean. The results of greenhouse experiment showed that 18 days after the seed of soybean were dealt with the xylo-oligosaccharide solution, compared with the control, 50 mg·L<sup>-1</sup> xylo-oligosaccharide obviously increased the height, fresh weight, and main root length of soybean seedlings. Inoculated with SMV after 18 hours of pre-treatment of the soybean leaves with xylo-oligosaccharide, compared with the control, the disease index of soybean mosaic virus was obviously reduced. Using Quantitative RT-PCR to test the expression of the defense-related gene of the soybean leaves dealt with xylo-oligosaccharide, compared with the control, the defense-related gene *PR2*, *PR10*, *PR12* and *LOX2* had the highest related expression quantity at the time of 12 hours, *PR3* at 18 hours, but *PR1*, *PAL*, *PPO*, and *CHS* at 24 hours. Results suggest that xylo-oligosaccharide can active salicylic acid (SA) and jasmonic acid (JA) signaling pathways of soybean, and enhances its resistance against SMV.

**Key words:** Xylo-oligosaccharide; Soybean; Growth promotion; SMV resistance; Quantitative RT-PCR

大豆花叶病毒(Soybean mosaic virus, SMV)可以侵染部分豆科植物特别是大豆,病毒主要借助蚜虫为媒介在田间传播和再侵染,可导致植株生长不良,产量和品质下降<sup>[1]</sup>。大豆花叶病毒病的主要防治方法是抗病品种选育和治蚜防病,但常规的育种手段存在选育周期长等缺点,而化学农药的使用又会污染生态环境,因此迫切需要寻求更为安全和经济有效的大豆花叶病毒病防治措施。近年来利用植物自身的防御系统,通过激发子和诱导剂激活植物抗病基因,使植物产生系统抗病性,成为新的研究方向。

低聚木糖又称木寡糖,是由2~7个木糖分子以β-1,4糖苷键结合而成的功能性聚合糖。可以通

过酸水解、热水抽提、微波降解或酶水解法处理木聚糖含量相对较高的农副产品如玉米芯、稻壳、蔗渣、麸皮等获得。低聚木糖可以使番茄茎叶生长健壮,还能增加番茄对土壤中N和K养分的吸收以及提高土壤微生物活性<sup>[2]</sup>。用低聚木糖处理毛白杨愈伤组织后可以降低其对杨树溃疡病菌的感病指数<sup>[3]</sup>。目前低聚糖激发子中的壳聚糖、葡聚寡糖和寡聚半乳糖醛酸等已在烟草、大豆、玉米等作物中取得了良好的防病效果<sup>[4]</sup>,但是关于低聚木糖促进大豆生长和防治大豆病害的研究鲜有报道。该文利用低聚木糖处理大豆,研究低聚木糖对大豆生长和大豆花叶病毒病抗性的影响,同时用Quantitative RT-PCR检测大豆叶片中防卫相关基因的相对表达

收稿日期:2012-03-31

基金项目:国家转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX08004-004);国家自然科学基金(31100056);高等学校博士学科点专项科研基金(20100097120011)。

第一作者简介:张秀秀(1985-),女,在读硕士,研究方向为植物病害生物防治。E-mail:zhangxx8162005@163.com。

通讯作者:高学文(1965-),男,教授,博士生导师,主要从事分子植物病理学与植物病害生物防治研究。E-mail:gaowx@njau.edu.cn。

量,初步分析了低聚木糖诱导的大豆抗病信号通路,为低聚木糖的应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

大豆病毒繁殖寄主为南农 1138-2,大豆花叶病毒株系 SC7(南京农业大学国家大豆改良中心智海剑教授惠赠)。供试大豆为吉丰 1 号(吉林农业大学惠赠),低聚木糖(山东龙力科技生物公司生产)。

### 1.2 方法

**1.2.1 温室促生试验** 选取健康无病斑的大豆种子,用 10% NaClO 消毒 3 min,清水洗 3~4 次,置于通风处晾干。然后分别用浓度为 0、10、30 和 50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的低聚木糖溶液浸泡大豆种子 6 h,之后播种于盛有灭菌土和蛭石混合物的花盆中,每盆 15 粒大豆,每个处理 4 盆,3 次重复。花盆放于  $(25 \pm 5)^\circ\text{C}$  的温室,18 d 后调查发芽率、株高、鲜重和地上部分重量。

**1.2.2 温室抗病试验** 播种于温室的大豆植株真叶展平时,分别用浓度为 0、10 和 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的低

聚木糖溶液均匀喷施于大豆叶片表面,每个叶片喷雾量为 1 mL,每个处理 10 株,3 次重复,18 h 后摩擦接种大豆花叶病毒 SC7 株系。20 d 后调查病情指数,并计算防病效果。大豆花叶病毒病的分级标准参照智海剑等的方法<sup>[5]</sup>。

**1.2.3 Quantitative RT-PCR 检测防卫相关基因的表达** 播种于温室的大豆植株真叶展平时,选取大小相近的叶片,每个叶片均匀喷雾 1 mL 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的低聚木糖溶液,以清水处理为对照,分别于喷施后 12、18、24 h 时取大豆叶片。用 Omega 的植物 RNA 提取试剂盒提取大豆叶片的总 RNA,采用 TaKaRa PrimerScript<sup>®</sup> Reverse Transcriptase 试剂盒将 mRNA 反转录成 cDNA。以适量的反转录产物为模板,使用 SYBR Premix ExTaq<sup>™</sup> Kit,采用 Two-step-qRT-PCR 在 ABI PRISM 7500 荧光定量 PCR 仪上进行 PR1、PR2、PR3、PR10、PR12、PAL、PPO、CHS 和 LOX2 基因表达量的测定,EF-1a 基因作为内参,引物序列见表 1。试验均设 3 个重复,以清水处理的植株为对照,qRT-PCR 的数据用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  的方法进行分析<sup>[6]</sup>。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Real time PCR primers designed for this study

基因 Gene	引物序列(5' - 3') Forward/reverse primers(5' - 3')	目标序列 Target sequence	退火温度 Ta/ $^\circ\text{C}$	基因长度 Gene length/bp	基因描述 Description	参考文献 Reference
EF-1a	CTGTAACAAAATGGATGCTACTAC AGTCAAGGTTTGTGGACCT	X56856	61	176	Elongation factor EF-1a	[7]
PR1	TGATGTTGCCTACGCTCAAG AAGCAGCAACCGTATCATCC	AF136636	61	137	PR1a precursor	[8]
PR2	GTCTCCTTCGGTGGTAGTG ACCCTCCTCCTGCTTTCTC	M37753	57	104	Beta 1-3 Endoglucanase	[9]
PR3	GCACTTGGTCTGGATTTG GGCTTGATGGCTTGTTTC	AF202731	53	115	Chitinase class I	[10]
PR10	GCCCAGGAACCATCAAGAAG CGCTGTAGCTGTATCCCAAG	AJ289155	58	108	Stress-induced ribonuclease-like protein	[11]
PR12	CATGGACAAGGCACGATTGG AACCGATGGCTCTTTGACTCAC	BU964598	62	108	Defensin precursor	[12]
PAL	GTGCAAGGGCTGCTTATG CCCAGTCCCTAATTCCTCTC	X52953	57	107	Phenylalanine ammonia-lyase	[13]
PPO	GGGTGCTGCTGCTGATAAG CGATCCGAGTTCGTGTATG	EF158428	62	100	Polyphenol oxidase	[14]
CHS	AGGCTGCAACTAAGGCAATC TAATCAGCACCAGGCATGTC	X53958	57	103	Chalcone synthase	[15]
LOX2	TGTTTGGCGGTGTAAATC CAAGGGCATCTGCTGTTATC	D13949	59	117	Lipoxygenase 2	[16]

### 1.3 数据分析

采用 SPSS 16.0 统计软件进行方差分析统计。

## 2 结果与分析

### 2.1 温室促生试验

从表 2 可知,10、30 和 50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  低聚木糖处理

的大豆株高显著增加,株高分别较对照增加了 31.58%、23.36% 和 49.63%;50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的低聚木糖对大豆幼苗的株高、鲜重和主根长均有显著的促进作用,分别比对照增加 49.63%、29.76% 和 20.96%;30  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  低聚木糖处理的发芽率高于其它处理,与对照相比提高了 19.51%。

表 2 不同浓度低聚木糖溶液对大豆发芽和生长的影响

浓度	发芽率	株高	鲜重	主根长
Concentration/mg·L <sup>-1</sup>	Germination percentage/%	Plant height/cm	Fresh weight/g	Main root length/cm
0	60.00 ± 14.35a	10.70 ± 1.36c	1.68 ± 0.16c	1.24 ± 0.22b
10	66.67 ± 17.97a	14.08 ± 1.22b	1.89 ± 0.20b	1.34 ± 0.15b
30	71.71 ± 16.60a	13.20 ± 1.11b	1.83 ± 0.31bc	1.29 ± 0.20b
50	66.67 ± 19.89a	16.01 ± 1.71a	2.18 ± 0.20a	1.50 ± 0.16a

表中数据表示为平均值 ± 标准差,同列数值后不同小写字母代表在 0.05 水平差异显著,下表同。  
Values are  $\bar{x} \pm SD$ , values in a column followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 level, the same below.

2.2 低聚木糖处理对大豆 SMV 抗性的影响

糖处理的病情指数显著低于对照;对大豆病毒病的防治效果分别为 30.43% 和 34.59%。低聚木糖明显诱导了大豆对 SMV 的抗性。

由表 3 可知,与对照相比,在 10 和 100 mg·L<sup>-1</sup> 低聚木糖处理下,大豆病毒病发病率分别降低了 12.00% 和 19.99%,但均未达到显著水平;低聚木

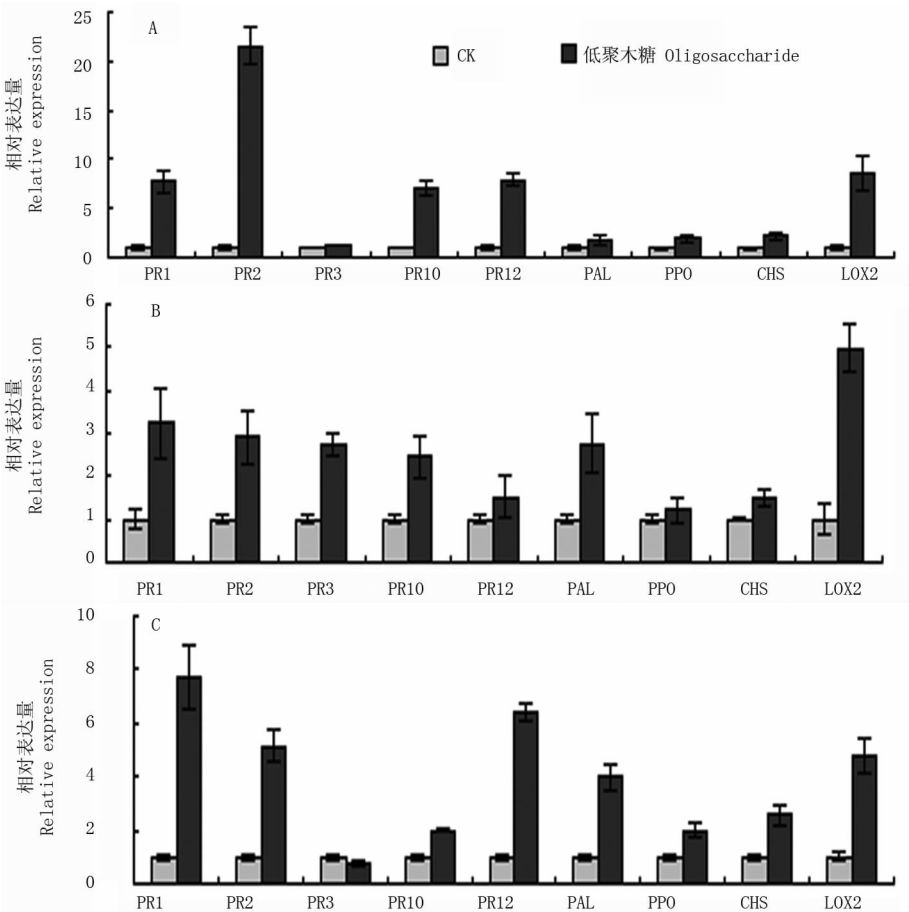
表 3 不同浓度低聚木糖在温室中对大豆病毒病的防效

浓度	发病率	病情指数	防效
Concentration/mg·L <sup>-1</sup>	Disease percentage/%	Disease index/%	Control efficacy/%
0	83.33 ± 15.27a	61.33 ± 6.11c	—
10	73.33 ± 5.77a	42.67 ± 6.11b	30.43
100	66.67 ± 5.77a	40.00 ± 8.00a	34.59

2.3 低聚木糖处理对防卫相关基因表达的影响

为了检测低聚木糖诱导的大豆对 SMV 抗性的分子机理,用 Quantitative RT-PCR 检测了低聚木糖

喷施大豆叶片 12、18 和 24 h 防卫相关基因的表达情况(图 3)。9 个防卫相关基因中  $\beta$ -1,3 葡聚糖酶基因(*PR2*)、控制核糖核酸酶蛋白基因(*PR10*)、防



A、B、C 分别表示低聚木糖处理 12、18 和 24 h

A, B, C stand for treatment with xylo-oligosaccharide at 12, 18, and 24 hour

图 3 低聚木糖处理叶片后不同时间段内大豆叶片中防卫相关基因表达水平  
Fig. 3 Expression levels of defense-related genes in leaves of soybean after different time of pre-treated with xylo-oligosaccharide

御相关蛋白表达基因 (*PR12*)、脂氧合酶基因 (*LOX2*) 在低聚木糖处理 12 h 时有最高的相对表达量,分别为对照的 21.56、7.19、7.95 和 8.56 倍;几丁质酶基因 (*PR3*) 在低聚木糖处理 18 h 时,基因表达量是对照 2.73 倍;低聚木糖处理大豆 24 h 时,系统获得抗性基因 (*PR1*)、多酚氧化酶基因 (*PPO*)、苯丙氨酸解氨酶基因 (*PAL*) 和查尔酮合成酶基因 (*CHS*) 表达量分别为对照的 7.75、1.99、3.98 和 2.56 倍。说明低聚木糖可能同时激活了大豆体内 SA 信号通路和 JA 信号通路,诱导了大豆对 SMV 的抗性。

### 3 结论与讨论

低聚糖生物农药作为一类新型的植物激素及植物抗性反应激活因子,在农作物生长发育和病虫害防治中具有广阔的应用开发前景,受到人们的广泛关注。低聚木糖是一种新型低聚糖,目前主要应用在食品和饲料领域,在农业中的应用鲜有报道。本研究中我们首次发现低聚木糖处理大豆可以促进大豆生长,还可以激活防卫相关基因,诱导大豆 SMV 抗性。此外,由于低聚木糖安全性好,结构稳定、黏度低且易溶于水,故低聚木糖也可作为生物农药的理想载体来加以利用。

低聚糖具有调控植物生长发育和繁殖的作用,激发植物发生一系列防卫反应,产生植保素和其它防卫物质,合成病程相关蛋白 (PR 蛋白),诱导植物产生过敏性反应<sup>[17]</sup>。植物细胞外的信号分子诱导植物抗病性的信号传导主要有两种:一种是 SA 途径,另一种是 JA 或 ET 途径。基因 *PR1* 和 *PR2* 是 SA 信号通路的标志基因,JA 诱导表达 *PR3*、*PR10* 和 *PR12* 基因;*LOX* 是 JA 形成过程中的一关键酶<sup>[18-20]</sup>。在本研究中,低聚木糖处理大豆叶片后除 *PR3* 在 24 h 未上调表达,其它 8 个基因在 12、18 和 24 h 3 个时间段均上调表达,并且最终表现为大豆对 SMV 的抗性增强。所以,推测低聚木糖可能同时激活了大豆体内 SA 信号通路和 JA 信号通路,使植株产生系统抗性,增强了对 SMV 入侵的抵抗能力。此外,有报道表明从大豆疫霉细胞壁中获得的葡聚糖激发子 (WGE) 可以诱导大豆体内 *PR1*、*PR2*、*PR4*、*PR6* 和 *PR10* 蛋白的表达<sup>[21]</sup>。有研究表明,低聚糖中的寡聚半乳糖醛酸处理烟草,可以诱导 JA 和 SA 的积累,激活防卫基因的表达,继而产生防卫反应<sup>[22-23]</sup>。因此,低聚木糖与寡聚半乳糖醛酸诱导植物防卫反应信号转导途径类似,涉及到 SA 和 JA 等信号途径,激活转录因子使防卫基因表达,产生

植保素和 PR 蛋白等,最终诱导植物产生抗性。

### 参考文献

- [1] 陈利锋,徐敬友. 农业植物病理学[M]. 北京:中国农业出版社,2001:220-222. (Chen L F, Xu J Y. Agricultural phytopathology[M]. Beijing: Agricultural Press, 2001:220-222.)
- [2] 姬小明,吕全建,赵铭钦. 低聚木糖的特性及应用研究进展[J]. 安徽农业科学,2007,35(23):7088-7089. (Ji X M, Lü Q J, Zhao M Q. Research progress of characteristics and application of xylo-oligosaccharide[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(23):7088-7089.)
- [3] 贺英. 几种低聚糖激发子的制备及其对毛白杨愈伤组织抗病性诱导作用的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2006:30-34. (He Y. Preparation of various oligosaccharides elicitors and research on disease resistance of *Populus tomentosa* callus induced by different elicitors[D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2006:30-34.)
- [4] Yamaguchi T, Ito Y, Shibuya N. Oligosaccharide elicitors and their receptors for plant defense responses[J]. Trends in Glycoscience and Glycotechnology, 2000, 12(64):113-120.
- [5] Zhi H J, Gai J Y. Performances and germplasm evaluation of quantitative resistance to soybean mosaic virus in soybeans[J]. Agricultural Science in China, 2004, 3(4):247-253.
- [6] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method[J]. Methods, 2001, 25(4):402-408.
- [7] Aguilar F, Montandon P E, Stutz E. Two genes encoding the soybean translation elongation factor eEF-1 alpha are transcribed in seedling leaves[J]. Plant Molecular Biology, 1991, 17:351-360.
- [8] Kim C S, Yi S Y, Lee Y K, et al. Isolation and differential expression of an acidic *PR-1* cDNA gene from soybean hypocotyls infected with *Phytophthora sojae* f. sp. *glycines*[J]. The Plant Pathology Journal, 2000, 16:9-18.
- [9] Takeuchi Y, Yoshikawa M, Takeba G, et al. Molecular cloning and ethylene induction of mRNA encoding a phytoalexin elicitor-releasing factor,  $\beta$ -1,3-endoglucanase, in soybean[J]. Plant Physiology, 1990, 93:673-682.
- [10] Gijzen M, Kuflu K, Qutob D, et al. A class I chitinase from soybean seed coat[J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52:2283-2289.
- [11] Ludwig A, Tenhaken R. Defence gene expression in soybean is linked to the status of the cell death program[J]. Plant Molecular Biology, 2000, 44:209-218.
- [12] Thomma B P H J, Cammue B P A, Thevissen K. Plant defensins[J]. Planta, 2002, 216:193-202.
- [13] Frank R L, Vodkin L O. Sequence and structure of a phenylalanine ammonia-lyase gene from *Glycine max*[J]. Mitochondrial DNA, 1991, 1(5):335-346.
- [14] Robert G U, Martha E R. Defense-related gene expression in soybean leaves and seeds inoculated with *Cercospora kikuchii* and *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2010, 75:64-70. (下转第 629 页)

- [16] Pereira J P, Rezende P M, Malfitano S C, et al. Effects of doses of Silicon in the yield and agronomic characteristics of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] [J]. *Ciencia e Agrotecnologia*, 2010, 34 (4): 908-913.
- [17] 张翠珍, 郑国红, 邵长泉, 等. 硅肥对糯玉米产量、品质及抗倒性的影响[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2007, 38 (3): 360-362. (Zhang C Z, Zheng G H, Shao C Q, et al. Effect of Silicon fertilizer on yield, quality and lodging resistance of waxy corn[J]. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2007, 38 (3): 360-362.)
- [18] 陈健晓, 屠乃美, 易镇邪, 等. 硅肥对超级早稻茎叶形态与抗倒伏特性的影响[J]. 作物研究, 2011, 25 (3): 209-212. (Chen J X, Tu N M, Yi Z X, et al. Effects of Silicon fertilizer on morphology of stem and leaves and lodging resistance in early super hybrid rice [J]. *Crop Research*, 2011, 25 (3): 209-212.)
- [19] 陈绍荣, 孙玲丽, 史先良, 等. 硅肥在水稻超高产栽培中的作用及其施用技术[J]. 磷肥与复肥, 2010, 25 (4): 75-76. (Chen S R, Sun L L, Shi X L, et al. The function of Silicon fertilizer in the cultivation of super-high-yielding rice and its application technique [J]. *Phosphate & Compound Fertilizer*, 2010, 25 (4): 75-76.)
- [20] 徐洪斌, 陈秋雪, 韩兆明. 硅肥与生物肥配合施用对寒地水稻的影响[J]. 现代农业, 2011 (5): 54-55. (Xu H B, Chen Q X, Han Z M. Effects of Silicon in conjunction with bio-fertilizer application on cold region rice [J]. *Modern Agriculture*, 2011 (5): 54-55.)
- [21] 邓文, 青先国, 蒲熙, 等. 硅肥和钙肥对超级杂交稻茎秆抗倒力学的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2008, 34 (5): 586-590. (Deng W, Qing X G, Pu X, et al. Effects of Silicon and Calcium application on the material characteristics of super hybrid rice [J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2008, 34 (5): 586-590.)
- [22] 王厚胜, 王吉春, 李才库, 等. 硅钙肥对水稻生育性状及产量的影响[J]. 吉林农业科学, 2007, 32 (3): 35-36. (Wang H S, Wang J C, Li C K, et al. Effect of Silicon-Calcium fertilizer on growing characters and yield of rice [J]. *Journal of Jilin Agricultural Sciences*, 2007, 32 (3): 35-36.)
- [23] 韩兴华, 王广龙, 李德志, 等. 硅素在水稻上的增产机理、效果及应用[J]. 现代农业科技, 2006 (8): 94. (Han X H, Wang G L, Li D Z, et al. Increasing mechanism of Silicon in rice, the effect and application [J]. *Modern Agricultural Technology*, 2006 (8): 94.)
- [24] 常春荣, 龚觅真, 廖基兴. 硅肥对南方花生产量和品质效应研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22 (11): 432-435. (Chang C R, Gong M Z, Liao J X. Effect of Silicon fertilizer on peanut yield and quality in south China [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22 (11): 432-435.)

(上接第 624 页)

- [15] Akada S, Kung S D, Dube S K. The nucleotide sequence of gene 3 of the soybean chalcone synthase multigene family [J]. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18: 5899.
- [16] Wang W H, Takano T, Shibata D, et al. Molecular basis of a null mutation in soybean lipoxygenase 2: substitution of glutamine for an iron-ligand histidine [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1994, 91: 5828-5832.
- [17] Francois G, Michael G H. Oligosaccharins: structures and signal transduction [J]. *Plant Molecular Biology*, 1994, 26: 1379-1411.
- [18] Van L C. The nomenclature of pathogenesis-related proteins [J]. *Plant Molecular Biology*, 1990, 37: 229.
- [19] Thomma B P H J, Eggermont K, Penninckx I A M A, et al. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1998, 95 (25): 15107-15111.
- [20] Vick B A, Zimmerman D C. Oxidative systems for modification of fatty acids: the lipoxygenase pathway [J]. *The Biochemistry of Plants*, 1987, 9: 53-90.
- [21] Graham M Y, Weidner J, Wheeler K, et al. Induced expression of pathogenesis-related protein genes in soybean by wounding and the *Phytophthora sojae* cell wall glucan elicitor [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2003, 63: 141-149.
- [22] Creelman R A, Mullet J E. Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: Nontraditional regulators of plant growth, development and gene expression [J]. *The Plant Cell*, 1997, 9: 1211-1223.
- [23] Klarzynski O, Descamps V, Plesse B, et al. Sulfated fucan oligosaccharides elicit defense responses in tobacco and local and systemic resistance against tobacco mosaic virus [J]. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 2003, 16 (2): 115-122.