

原 著

パセリ培養細胞の防禦応答に対する光強度の影響

中河原 俊 治・知 地 英 征*・中 矢 雅 明・太 田 喜 元**

The Effects of Light Intensity on Defense Responses
in the Cultured Cells of Parsley

Shunji NAKAGAWARA, Hideyuki CHIJI*, Masaaki NAKAYA and Yoshimoto OHTA**

*Department of Food Science and Human Nutrition, Faculty of Human Ecology, Fuji Women's College

**Department of Biotechnological Science, The School of Biology-Oriented Science
and Technology, Kinki University

緒 言

前報⁽¹⁾において著者らは $6 \mu\text{mole photon/m}^2/\text{sec}$ の光強度条件下で無菌的に培養したパセリ (*Petroselinum crispum*) 細胞において 1. この光の照射によって活性の上昇が観察されるフェニルアラニンアンモニリアーゼと、それとは別に酵母エキスエリシター処理によって活性の上昇が誘導されるフェニルアラニンアンモニリアーゼとの二種類のアイソザイムが存在することが示唆され、2. 酵母エキスエリシター処理によって還元型グルタチオンが *de novo* 合成

される、すなわち酵母エキスエリシターが酸化シグナルの生成に関与している可能性を示唆した。このとき、酵母エキスエリシターによって活性化するフェニルアラニンアンモニリアーゼはアントシアニン類生成には関与していないことから、パセリ培養細胞のフェニルアラニンアンモニリアーゼのアイソザイムは光条件およびエリシター条件によって各々独立に制御されていると考えられた。

そこでパセリ培養細胞内グルタチオンレベルとフェニルアラニンアンモニリアーゼ活性に対する光の影響についてさらに検討を加えた。

* 藤女子大学人間生活学部食物栄養学科

** 近畿大学生物理工学部生物工学科

材料と方法

(1) 供試材料

パセリ (オランダゼリ *Petroselinum crispum*) はセリ目Umbellalesセリ科Umbelliferaeオランダゼリ属*Petroselinum*の2年草-多年草で、実験に用いたパセリ種子は市販の園芸品種 (パラマウント) である。

(2) 培養方法

1. 材料の養成

種子殺菌は常法によって行なった。すなわち洗浄した種子は一昼夜流水中に放置し、その後、0.1% Tween 20に2分間攪拌しながら浸漬したのち、72%エタノールに移し2分間攪拌浸漬した。ついで0.1% Tween 20を含んだ1%次亜塩素酸ナトリウム溶液 (Antiformin) に20分間浸漬し、滅菌水で4回洗浄し表面殺菌を行なった。

殺菌した種子は植物生長調節剤無添加のLS培地⁽²⁾に播種し、25℃、暗所にて発芽させた。

2. 培養

播種後、子葉が展開し下胚軸が3 cm程度に伸長した個体から、子葉の下1 cmで下胚軸を切り取った。切り取った下胚軸はカルス形成のために約0.5 cmの長さで切断し、カルス形成培地に切断面を接触させるように置床した。これを25℃、暗所にて培養した。

得られたカルスを2% sucroseを含んだ改変 Gamborg B5培地⁽²⁾に移植し、25℃暗所にて継代培養を行なった。

十分に生育したカルスは同じ組成の液体培地を用いて旋回培養 (110 rpm) を行なった。継代は10-14日ごとに新鮮培地に植え継いで行なった。照明を用いた場合には蛍光灯を用いた (6 または 30 $\mu\text{mole photon/m}^2/\text{sec}$)。光量は quantum sensor LI-190SA を取り付け Data Logger LI-1000 (LI-COR, Lincoln, NEB, USA)

を用いて測定した。

(3) エリシターの調製

生物学的エリシターとして酵母エキス、非生物学的エリシターとして五酸化バナジウムおよびバナジン酸硫酸を用いた。酵母エキス (autolysed yeast, Difco, Detroit, MI, USA) は121℃、15分間のオートクレーブを行ない、20 mg/mlのストック溶液を調製した。五酸化バナジウム (V_2O_5) は20 mM KOHに溶解し、5 mMの五価バナジウム塩としてストック溶液を調製し、バナジン酸硫酸 (VO_2SO_4) は脱イオン水 (Milli-Q) に溶解し、5 mMの四価バナジウム塩として調製し、それぞれは培養細胞への添加の際にメンブラン濾過して滅菌した。

エリシター投与実験では、継代培養細胞を新鮮培地に移植後、4日間の前培養ののち、酵母エキスは終濃度0.18%となるように投与し、五酸化バナジウムは終濃度0.2 mMとなるように投与した。

(4) 細胞内グルタチオンの定量

細胞内グルタチオンはチオール標識蛍光プローブ ABD-F (7-fluoro-4-sulfamoyl-2,1,3-benzoxadiazole, 同仁化学) によって標識し、蛍光検出器つきHPLCで分離定量した。

エリシター処理後経時的に採取した (新鮮重約0.2 g) パセリ培養細胞は脱イオン水 (Milli-Q) で洗浄濾過後、1.5 ml マイクロチューブに入れて秤量し、10% 5-sulfosalicylic acid (SSA) を加えて Polytron PT1200 (Kinematica, Luzern, Switzerland) を用い1-2分間破砕した。破砕物は14,000 xg、15分間、4℃で遠心し、上清を得た。上清0.5 mlに過剰量の KHCO_3 粉末を加え中和した。中和した抽出液を0.2 mlずつに二つに分け、一方を還元型グルタチオンとして定量し、もう一方を1 mM dithiothreitol (DTT) によって酸化型グルタチオンを還元 (室温、30

分間)した後、総グルタチオン量として定量した。酸化型グルタチオン量は総グルタチオン量から還元型グルタチオン量を差し引いたものとした。中和した、あるいは中和してDTT還元した上清0.2 mlに、2 mM EDTAを含んだ100 mM borate (K), pH 8.0に溶解した1 mM ABD-Fを0.2 ml加え、十分に攪拌した後、暗所下50℃にて5分間反応させた。反応は氷水中で急冷した後、速やかに0.04 mlの100% SSAを加えて停止させた。この反応液をメンブレンフィルターで濾過した後、0.01 mlをHPLCに注入した。

用いたカラムは逆相のYMC-pack Pro C18, 4.6x150 mm (YMC)で、移動相はA: 50 mM phtarate buffer (K), pH 4.0, B: 75% acetonitrileとし、Bを0-100%/0-10 minの直線勾配プログラムとした。流速は1.0 ml/minである。検出器はDynamax fluorescence detector FL-1 (Rainin Instruments, Woburn, MA, USA)を用い、励起波長380 nm, 蛍光波長510 nmで測定した。グルタチオン濃度は標品を用いた検量線により定量した。

(5) フェニルアラニンアンモニアラーゼ (PAL) 活性の測定

L-phenylalanine ammonia-lyase (EC 4.3.1.5, PAL) 活性の測定はStrack, P. and Mock, H.-P.の方法⁽³⁾に従って行った。エリシター処理後経時的に採取した(新鮮重約0.2 g)パセリ培養細胞は脱イオン水(Milli-Q)で洗浄濾過後、1.5 mlマイクロチューブに入れて秤量し、-20℃の冷アセトン1 mlを加えてPolytron PT1200を用い1-2分間破碎した。破碎物は桐山濾紙(No. 5A)を用いて濾過後、diethyletherで洗浄し、室温乾燥後アセトンパウダーを得た。このアセトンパウダーに1 mlの100 mM borate buffer (Na), pH 8.5を加えて酵素を抽出し、16,000 xg, 4℃, 15分間遠心した。得られた上清を粗酵素

液とした。

総量3.0 mlとした酵素反応液の組成は0.3 mlの100 mM borate buffer (Na), pH 8.5, 0.1 mlの粗酵素液とし、0.3 mlの10 mM L-phenylalanineを加えて37℃で反応を開始させた。反応は生成する*trans*-cinnamic acidの290 nmの吸収で測定した。モル吸収係数は $\epsilon = 1 \times 10^7$ (25-40℃)を用いた。

結果と論議

1. 暗所下で培養したパセリ細胞のグルタチオン生成に対するエリシターの影響

パセリにおけるフィトアレキシン(誘導性抗菌物質)はフラノクマリンであるとされ、その生成はフラボノイド生成と同じシキミ酸経路を経由するもので、したがって、フェニルアラニンアンモニアラーゼが鍵酵素となっているものと考えられている。すなわちパセリにおけるストレス応答もストレス化合物合成酵素遺伝子の発現レベルで調節されている。

はじめにパセリ細胞に重金属ストレス等のエリシターを負荷する実験を行なった。暗所下で培養しているパセリ細胞(4 days subcultured)にV₂O₅/20 mM KOHおよびVOSO₄ aq.のバナジウム塩溶液(それぞれ五価および四価のバナジウム; 終濃度各0.2 mM)およびオートクレーブした酵母エキス(終濃度0.18%)を投与し、細胞内の還元力(還元型, 酸化型およびそれらの総グルタチオン濃度)に対する影響を調べた。実験は独立した2回の実験を行ない、それぞれは4回の繰り返し測定を行った。

その結果、バナジウム塩処理を行なうことによって総グルタチオン濃度には大きな変化が見られなかった(図1 B)が、還元型グルタチオン含量が減少し、その分として酸化型グルタチオン含量が増加した(図1 A, C)。一方、オートクレーブした酵母エキス処理した細胞では還

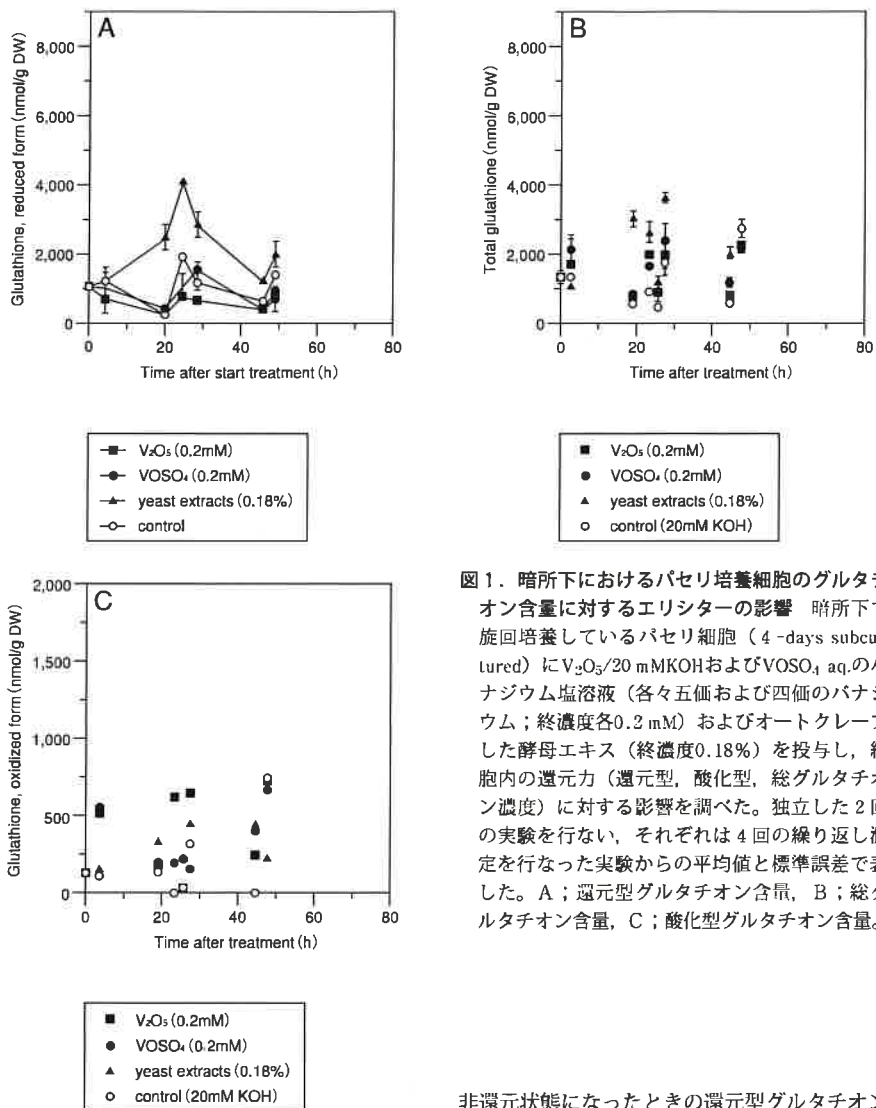


図 1. 暗所下におけるパセリ培養細胞のグルタチオン含量に対するエリシターの影響 暗所下で旋回培養しているパセリ細胞 (4-days subcultured) に $V_2O_5/20$ mM KOH および $VOSO_4$ aq. のバナジウム塩溶液 (各々五価および四価のバナジウム; 終濃度各 0.2 mM) およびオートクレーブした酵母エキス (終濃度 0.18%) を投与し, 細胞内の還元力 (還元型, 酸化型, 総グルタチオン濃度) に対する影響を調べた。独立した 2 回の実験を行ない, それぞれは 4 回の繰り返し測定を行なった実験からの平均値と標準誤差で表した。A; 還元型グルタチオン含量, B; 総グルタチオン含量, C; 酸化型グルタチオン含量。

還元型グルタチオンの含量が 24 時間以内に約 4 - 5 倍に増加したが, 酸化型グルタチオンはあまり増加しなかった (図 1 A, C)。これらのことからバナジウム塩は酸化されたグルタチオンの還元系を阻害し, またそれによって細胞内が

非還元状態になったときの還元型グルタチオンの生合成も誘導しないことが示唆され, 一方, オートクレーブした酵母エキスは細胞内の還元状態維持系の機能を乱すことなくエリシターとして働くことが認められた。しかしながらいずれの処理においても二次代謝化合物の産生増大には結びつかなかった。

2. 暗所下で培養したパセリ細胞のphenylalanine ammonia-lyase 活性に対するエリシターの影響

暗所下で培養しているパセリ細胞（4 days subcultured）にオートクレーブした酵母エキス（終濃度0.18%）を投与し、パセリ細胞における二次代謝産物であるphenylpropanoidsの生合成のkey enzymeの一つとされるL-phenylalanine ammonia-lyase（EC 4.3.1.5, PAL）活性の誘導に対する影響を調べた。

その結果、オートクレーブした酵母エキス処理を行なうことによってPAL活性の新規の誘導を認め、24時間以内に1.5 nKat/gDWに達した（図2）。その後緩やかに減少したが72時間まではコントロールのレベルには戻らなかった。コントロールにおけるPAL活性は実験期間中を通じてまったく認められなかった。酵母エリシター処理によってPAL活性の誘導は認められたがアントシアニン類の産生誘導は認められ

なかった。

このことからオートクレーブした酵母エキス処理でPAL活性が誘導されるがその産物はアントシアニン類ではなくフラノクマリンなどのphenylpropanoidsであると考えられ、おなじphenylpropanoidsであっても $6 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件下で生成するアントシアニン類は光の関与した全く別の制御系で生合成が制御されていることが示唆された。

そこでphenylpropanoid画分について酵母エキス処理した細胞からMeOH-H₂Oで抽出しHPLCで分析したところ、270および330 nmに吸収をもつ、コントロール細胞では見られない10数本のピークが認められた（data not shown）。このうち少なくとも3本のピークについてはflavonoidの特徴的な吸収曲線を示し、いくつかのflavone類が生成していること（構造未決定）が示唆された。

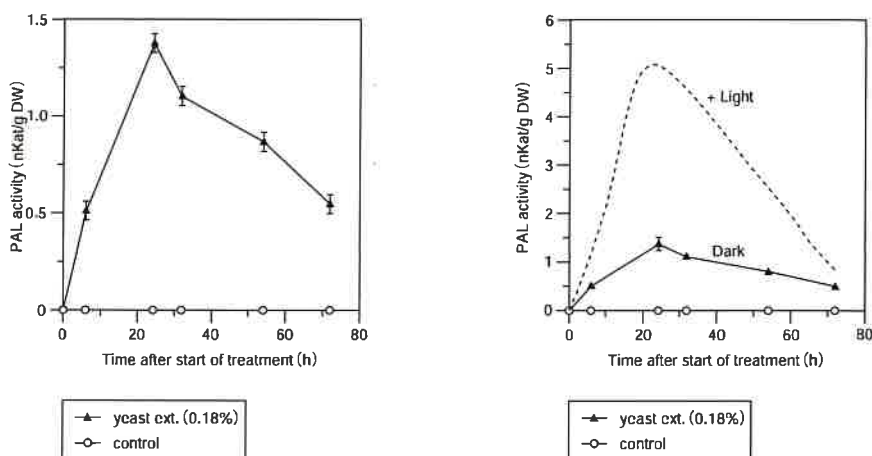


図2. 暗所下におけるパセリ培養細胞のフェニルアラニンアンモニアラーゼ活性に対するエリシターの影響 暗所下で旋回培養しているパセリ細胞（4-days subcultured）にオートクレーブした酵母エキス（終濃度0.18%）を投与し、パセリの二次代謝産物であるphenylpropanoid生合成のkey enzymeの一つであるL-phenylalanine ammonia-lyase（EC 4.3.1.5, PAL）活性の誘導に対する影響を調べた。独立した2回の実験を行ない、それぞれ4回の繰り返し測定を行なった実験からの平均値と標準誤差で表した。

3. 強光下で培養したパセリ細胞のグルタチオン合成および phenylalanine ammonia-lyase 活性に対するエリシターの影響

強光下 ($30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) で培養しているパセリ細胞 (4 days subcultured) にオートクレーブした酵母エキス (終濃度0.18%) を投与し、パセリ細胞における還元状態維持系の中で主たる役割を担っていると考えられているグルタチオン含量に対する影響ならびに二次代謝産物である phenylpropanoids の合成系の key enzyme の一つとされる L-phenylalanine ammonia-lyase (EC 4.3.1.5, PAL) 活性の誘導に対する影響を調べた。

その結果、オートクレーブした酵母エキス処理を行なうことによってグルタチオン含量は24時間以内にコントロールの約4倍、 $18 \mu\text{mole}/\text{gDW}$ に達した (図3A)。しかしながらコントロールのレベル自体が暗所下で培養したときの約3倍であったので、暗所下で培養した細胞に比較するとそのグルタチオン合成のエリシターによる誘導は約10倍であった。このことは強光下に置かれた細胞はその光による傷害を修復するためグルタチオン合成をすでに高い状態に維持しており、そのときに加えられた外部ストレスに対する応答の潜在的な能力も飛躍的に高めるといふ仕組みを備えているのではないかと考えられた。

一方、PAL活性についても新規の誘導を認め24時間以内に $1.5 \text{ nKat}/\text{gDW}$ となったが、それは暗所下でのレベルと同程度であった (図3D)。コントロールにおけるPAL活性は実験期間中を通じてまったく認められなかった。この処理ではPAL活性の誘導は認められたがアントシアニン類の産生誘導は認められなかった。

強光下で培養された細胞では phenylpropanoid 合成系の誘導は起きるもののそのレベルは弱光下で培養したときと比べると約1/3程度であり、強光によって抑制されているものと

考えられた。一般にPALを含むシキミ酸経路によって合成されるフラボノイドはそれが光エネルギーを吸収することによって光傷害を回避するために、合成の光誘導を受けるとされている⁽⁴⁾のであるが、 $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ 程度の光条件下ではその機能の不全が生じていることを示唆するものである。

これらのように前報および本研究によりパセリ培養細胞においてその培養時の光条件が変化すると光による傷害を修復する機能や傷害を防禦する機能はあるレベルまでの光の強さに比例して高められるが、光に対する感受性は異なっていることが明らかとなり、したがってこれらの機能は個別に制御されているということが示唆された。

光強度に対するグルタチオン合成は $6 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ 程度の光条件下では暗所下と同程度であり、すなわち光による合成の活性化は見られず、通常のアスコルベート-グルタチオン回路によるリサイクリングが行われているものと考えられるが、 $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ 程度の光条件となると合成が高められている (図4A, B)。ここで問題となるのはそのようなパセリ細胞に同条件でエリシター処理を行ったときに6および $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件ではその応答が異なるということである。植物のストレス応答がある外部刺激の大きさに反応するものであれば $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件で高められたグルタチオン濃度を最大としたとき、そこに光以外のストレスが加わったとしても合成能自体は最大に達しているのもそれ以上の活性化はないと考えることができるのであるが、図4A, Bの結果はそうではないことを示している。通常の光条件、ここでは $6 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ 程度ではエリシター処理によって高まるグルタチオン濃度は高だか $5 \mu\text{mole}/\text{gDW}$ であるが、 $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光によって既に活性化されている状態でのエリシターの効果はさらにその3-

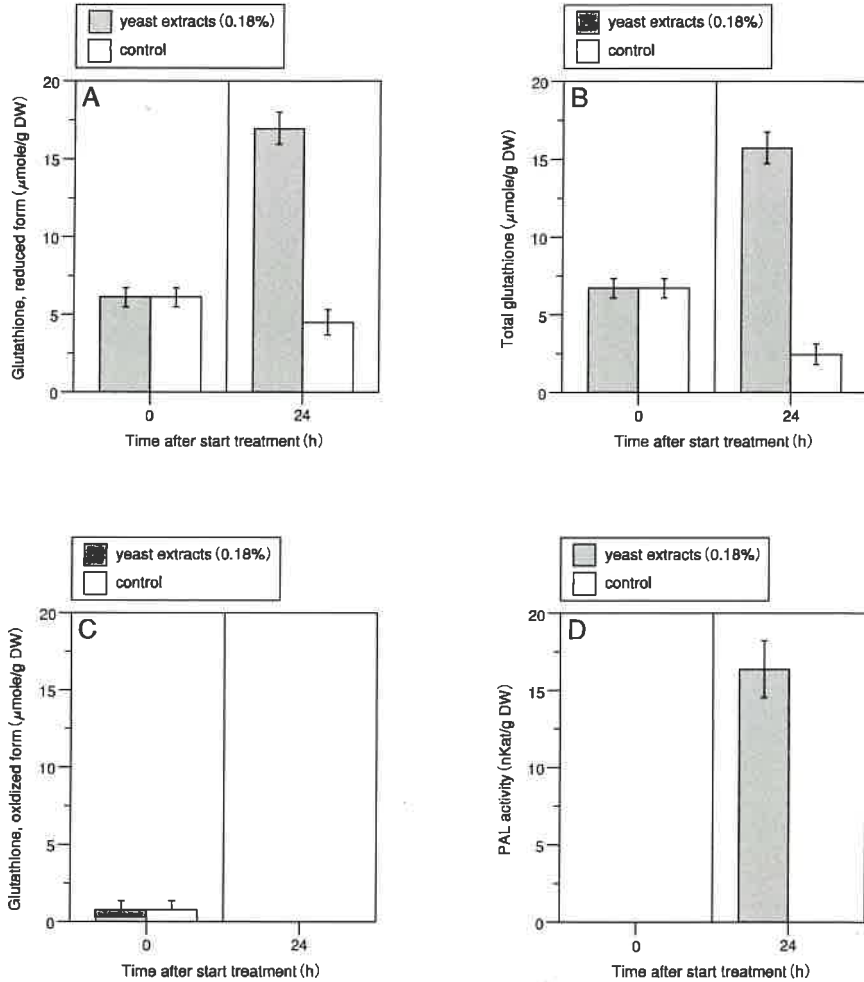


図3. 強光下におけるパセリ培養細胞のグルタチオン含量およびフェニルアラニンアンモニアラーゼ活性に対するエリシターの影響 強光下 ($30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) で巡回培養しているパセリ細胞 (4-days subcultured) にオートクレーブした酵母エキス (終濃度0.18%) を投与し、パセリ細胞における還元状態維持系において主たる役割を担っていると考えられているグルタチオン含量に対する影響、ならびにパセリの二次代謝産物である phenylpropanoid 生合成の key enzyme の一つである L-phenylalanine ammonia-lyase (EC 4.3.1.5, PAL) 活性の誘導に対する影響を調べた。独立した2回の実験を行ない、それぞれは4回の繰り返し測定を行なった実験からの平均値と標準誤差で表した。A; 還元型グルタチオン含量, B; 総グルタチオン含量, C; 酸化型グルタチオン含量, D; PAL活性。

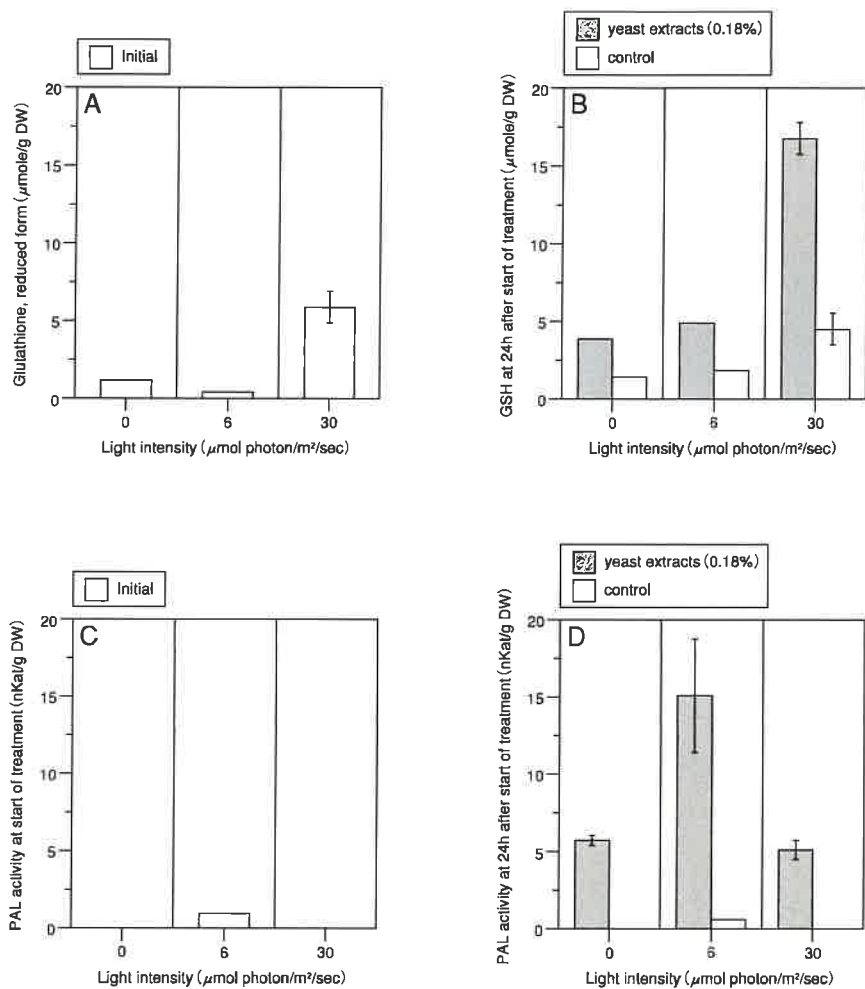


図 4. エリシターによって誘導されるパセリ細胞のグルタチオン含量およびフェニルアラニンアンモニアリアーゼ活性に対する光条件の影響 オートクレーブした酵母エキスエリシター (終濃度0.18%) によるグルタチオン含量, ならびにL-phenylalanine ammonia-lyase (EC 4.3.1.5, PAL) 活性の誘導に対する影響を光条件に対してプロットした。独立した2回の実験を行ない, それぞれは4回の繰り返し測定を行なった実験からの平均値と標準誤差で表した。A; エリシター投与前の還元型グルタチオン含量, B; エリシター投与後, 24時間後の還元型グルタチオン含量, C; エリシター投与前のPAL活性, D; エリシター投与後, 24時間後のPAL活性。

4倍にまで高められている。このことはグルタチオン合成の制御系の光に対する受容体とエリシターに対する受容体とは別々に機能しており、しかもその受容体から伝達されるシグナルによってグルタチオン合成の活性化の大きさが制御されているということを示すものと考えられる。しかしながらこのような細胞内グルタチオン濃度の違いが単に外部ストレスによる傷害の程度に関連しているのか、あるいは生理学的に別の機能を担っているのかについては現在のところ不明であり、細胞内の還元状態の維持はすなわち植物細胞の生命維持に重要な意義を有するので、今後の詳細な研究が要求されるものと考えられる。

一方、植物の主要な二次代謝系のうちのひとつであるphenylpropanoid代謝系（シキミ酸経路）のkey enzymeであるPAL活性に関する光強度の影響は一般に同様のストレス応答に関与するものであるが、グルタチオンの挙動とは異なったものであった。PAL活性あるいはその合成系の下流に位置するカルコン合成酵素（chalcone synthase, CHS）活性は光によってもエリシターによっても誘導されることが知られている^(4,5)が、それらがどのように互に関連しあってストレス応答を形成しているのかについては現在活発な議論が続けられている。

PAL活性は暗所でエリシター処理によって誘導された（図4 C, D）が、 $6 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件下で誘導される活性はその約3倍であった。この条件ではエリシター処理無しでも光による誘導が見られている。ところが $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件では光による誘導は全く見られず、エリシター処理による誘導は暗所下と同程度であった（図4 D）。このことはPAL活性の発現を誘導する情報伝達系は複数あること、そして $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件では光に対する受容体の機能が損なわれておりエリシターに感受性の受容体のみが機能していることを示す

ものと考えられる。

図4 Dに示されているように $6 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件のときにエリシターによって誘導されるPAL活性の増大が暗所下のそれに比して有意に大きい、その意味するところは不明である。

このような $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件におけるPAL活性誘導の不全は図4 Bのグルタチオン濃度の増大と関係しているように見える。すなわち $30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ の光条件におけるグルタチオン濃度の増加は、この条件で阻害されるPAL活性に由来する二次代謝化合物産生の阻害を保障するためにグルタチオンが細胞機能の修復など何らかの役割を有していることを示しているのかもしれない。

地球上の生物は太陽から放射される紫外線のうち、UV-B（280-320nm）によって様々な影響を受けることが知られているが、UV-Bによる傷害に対する応答として、phenylpropanoid合成経路の活性化やUV保護色素の蓄積が示されている⁽⁵⁾。

また、シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）におけるUV-Bを介した情報伝達系では、UV-Bの強度が低い場合、phenylpropanoids特異的信息伝達系と、Pathogenesis-related protein特異的信息伝達系の両方が関与し、強度が高い場合には、非特異的な酸化ストレスが関与するとされている⁽⁵⁾。

インゲンマメ（*Phaseolus vulgaris*）を川いた実験では、紫外線に対するDNAの傷害は、特に波長295nm以下で顕著であるが、フラボノイド合成の誘導はもっと幅広い範囲で起こることから、フラボノイド合成はDNA傷害の結果として起こるのではなく、異なった情報伝達経路を経て起こるものであるのかもしれないということが示された⁽⁶⁾。

これらのようにパセリ培養細胞においても、その光強度の影響はとくに紫外領域の放射の関

与が推定される。

以上のような結果を模式的に示したのが図5である。酵母エキスエリシターはPAL活性の上昇を誘導するが、これはパセリ培養細胞のアントシアニン様色素の生合成経路には含まれていない酵素である。エリシターによって誘導される細胞内グルタチオン濃度は光強度に依存的に高まることが明らかとなった。また、強い光 ($30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) の照射は酵母エキスエリシターによるPAL活性の誘導を抑制することが示唆された。

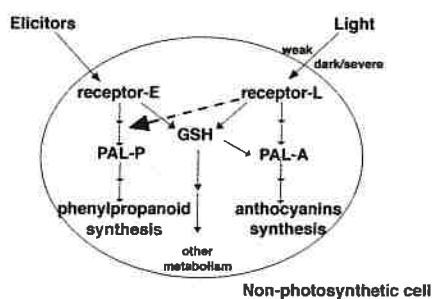


図5. エリシターと光条件のグルタチオン含量ならびにPAL活性への影響 パセリの非光合成細胞における酵母エキスエリシターと光強度のグルタチオンとPAL活性に対する影響を模式化した。receptor-E; エリシターに対する受容体, receptor-L; 光に対する受容体, PAL-P; phenylpropanoid 生合成経路におけるPAL, PAL-A; anthocyanin 生合成経路におけるPAL, 酵母エキスエリシターに対する受容体と光に対する受容体は異なっており、それぞれから別のPALに対してシグナルが伝達されるものと考えられる。グルタチオン濃度の制御はどちらの受容体からも行われているように見える。弱い光 ($6 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) 条件下ではアントシアニン様色素の生成が高まり、暗所または強い光 ($30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) 条件下ではアントシアニン様色素の生成は抑制される。また、強い光 ($30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) 条件はphenylpropanoid 生合成に対し抑制的にはたらく。

謝 辞

本研究の一部は農林水産省食品総合研究所(現(独)食品総合研究所)のご協力を得て実施されたものであり、ここに謝意を表します。

参考文献

- 1) 中河原俊治, 知地英征, 中矢雅明, 太田喜元, パセリ培養細胞における防禦応答: 北海道文教大学短期大学部研究紀要 第27号 87-91, 2003
- 2) George, E.F. *et al.*, Plant culture media, Vol.1. Formulations and Uses, Exegetics Ltd., England, 1987
- 3) Strack, P. and Mock, H.-P. *In* Methods Plant Biochem., 9, 45-97, Academic Press, San Diego, CA, USA, 1993
- 4) Petersen, M., Strack, D. and Matern, U. Biosynthesis of Phenylpropanoids and related compounds. *In* Biochemistry of Plant Secondary Metabolism, 151-221, Sheffield Academic Press, Sheffield, England, 1999
- 5) Frohnmeyer, H. and Straiger, D. Ultraviolet-B Radiation-Mediated Responses in Plants. Balancing Damage and Protection, Plant Physiology, 133, 1420-1428, 2003
- 6) Kucera, B., Leubner-Metzger, G. and Wellmann, E. Distinct Ultraviolet-Signaling Pathways in Bean Leaves. DNA Damage Is Associated with β -1,3-Glucanase Gene Induction, But Not with Flavonoid Formation, Plant Physiology, 133, 1445-1452, 2003

Abstract

The effects of light intensity on the glutathione level and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity related with elicitors were investigated in the cultured cells of parsley (*Petroselinum crispum*). The level of GSH, the reduced form of glutathione, in the cells was increased by the addition of a yeast extract elicitor. The rate of elicitor-induced GSH synthesis depended on light intensity. The elicitor also induced PAL activity in the cells, although the increased activity was higher in weak illumination than a strong one. The yeast-elicitor dependent PAL activity was not involved in the anthocyanin-like pigment synthetic pathway in the cultured non-photosynthetic cells of parsley, but another (yeast-elicitor independent) isozyme of PAL was presumed to be a member of the pigment synthetic pathway.