

细胞壁羟脯氨酸的含量与大豆 灰斑病抗性关系的研究^{*}

赵小钊 弭忠祥

(东北农业大学, 哈尔滨 150030)

摘要 大豆植株在正常生长条件下, 细胞壁中羟脯氨酸的含量是处于相对稳定的, 当大豆受到灰斑病菌的侵染时, 细胞壁中羟脯氨酸的含量相应的增加, 在抗灰斑病的大豆品种中, 细胞壁中羟脯氨酸含量的积累 不论是在积累的速度和积累的 量上均较感病品种更加明显。这一结果表明, 大豆细胞壁中羟脯氨酸这种含量上的变化与大豆对灰斑病的抗性作用是密切相关的。

关键词 羟脯氨酸; 大豆灰斑病; 抗病性

富含羟脯氨酸糖蛋白 (Hydroxyproline- Rich Glycoprotein, HRGP) 是高等植物细胞壁中普遍存在的一种结构蛋白, 与细胞壁的精细结构及多种生理功能密切相关, 近年来发现它与植物的抗病性存在着密切的关系, 更加引起人们的重视。糖蛋白的基本组成包含寡糖和肽链两部分, 糖的部分主要是半乳糖、阿拉伯糖和半乳糖醛酸等, 蛋白质部分主要是羟脯氨酸、丝氨酸等, 特别是羟脯氨酸的含量高达 30% - 40%^[1], 羟脯氨酸含量高是这类糖蛋白的特点之一。因此, 对羟脯氨酸含量的测定, 在某种程度上是代表了糖蛋白的含量, 细胞壁的制备及羟脯氨酸含量的分析测定是糖蛋白研究中重要的内容。

大豆灰斑病是东北地区大豆的主要真菌病害, 我们对两个不同抗性程度的大豆品种的叶片细胞壁中羟脯氨酸含量的测定, 得出羟脯氨酸含量的积累与大豆抗性的关系。

1 材料和方法

1.1 大豆品种

对大豆灰斑病表现出高抗品种东农 9674, 感病品种东农 1330, 上述品种均来自于东北农业大学大豆研究所。

1.2 接种处理

大豆灰斑病 (*Cercospora sojina* Hara) 病菌经 PDA 平板培养基上培养, 待到产孢高峰期用 DDW 水刷洗下孢子制成孢子悬液, 盆栽大豆幼苗在复叶出现时接种, 作好标记, 继

^{*} 黑龙江省自然科学基金项目。

收稿日期 1999-10-26 Received on Oct. 26, 1999

续保湿培育。接种 12 小时后开始取样,以后每隔 12 小时取样一次至病斑出现,正常对照组不接种灰斑病菌。

1.3 细胞壁羟脯氨酸含量的测定

分期从每一处理组取幼苗 5 株,取已接种的叶片组织称取重约 2g 根据 Hammerschmidt 等^[2]的方法制备细胞壁,获得的细胞壁制备物在 70~ 75℃ 烘干至恒重,称重(5~ 10mg)参照蔡武城和袁积厚^[3]的方法水解细胞壁中的羟脯氨酸,氧化、抽提、显色和测定

2 结果和讨论

没有接种灰斑病菌的正常对照组,抗性品种和感病品种幼苗叶片细胞壁中羟脯氨酸的含量均处于较低的水平(见图 1),当接种大豆灰斑病菌后,不论是抗病品种东农 9674 和感病品种东农 1330,细胞壁中羟脯氨酸的含量均有不同程度的高于各自的健苗对照组,并随着接种时间的增长,病菌的侵入,细胞壁中羟脯氨酸含量的变化在上述两个品种中存在有一定的差异。抗性品种东农 9674 在接种灰斑病菌后的 24~ 48 小时,细胞壁羟脯氨酸的含量出现明显的增加,48~ 72 小时含量达到最高,并能较持久的维持在这一水平,当叶片中病斑出现较明显时,其含量有所降低,但仍然高于接种前细胞壁中羟脯氨酸含量的水平;而感病品种东农 1330 接种后,细胞壁中羟脯氨酸的含量虽然也出现有不同程度的增加,但是从时间上却有所推迟,接种后的 48~ 72 小时,细胞壁中羟脯氨酸的含量出现有上升的趋势,虽然从含量上最终也能接近抗性品种东农 9674 的水平,但是在这一高度上所能维持的时间确明显的低于抗性品种,当病斑出现时羟脯氨酸的含量出现急剧的降低,甚至低于接种前的正常对照组。接种灰斑病菌后,上述两个品种细胞壁中羟脯氨酸含量的变化如图 1 所示。

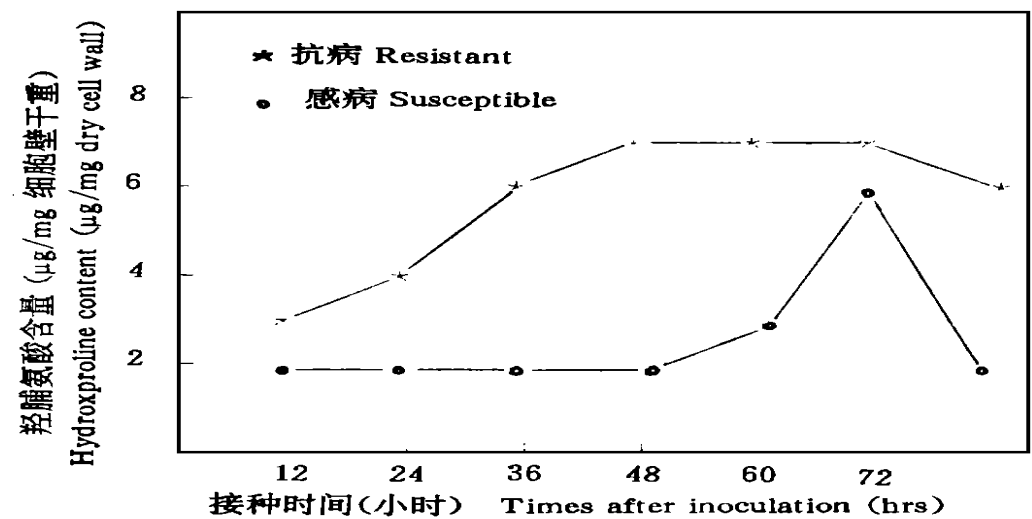


图 1 大豆叶片细胞壁中羟脯氨酸含量的变化

Fig. 1 Changes of hydroxyproline content in cell wall of leaf of soybean seedlings

上述研究的结果表明:抗性品种东农 9674, 接种灰斑病菌后在细胞壁中能够迅速大量的合成积累羟脯氨酸, 而感病品种细胞壁中羟脯氨酸的积累不论是在积累的速度和积累的量上与抗性品种均存在有差异。从这一点上看, 细胞壁羟脯氨酸含量的积累是大豆受病菌侵染后的抗性反应机制之一。

细胞壁富含羟脯氨酸糖蛋白, 作为一种抗病性机制的分子基础与植物的抗病性存在有密切的关系, 已经在多种植物病害中所证实^[4]。目前认为这种抗性机制可能来自两个方面, 一方面是该糖蛋白作为细胞壁的结构组分, 它的合成积累起到加固细胞壁的作用, 从而形成对病原菌入侵的结构屏障; 另一方面已经发现一些植物中的富含羟脯氨酸糖蛋白具有凝聚素的作用, 使病原菌的生长受到抑制。因此, Esquerre- Tugage 等^[5]认为, 当植物受到病原菌的侵害时, 细胞壁糖蛋白的合成积累是作为防御机制的一部分起作用, 如果植物组织在遭受到侵染的早期积累这种糖蛋白, 那么这种防御机制是有效的。我们对已接种灰斑病菌的抗、感两个大豆品种细胞壁中羟脯氨酸含量的测定结果表明, 具有抗灰斑病栽培性质的大豆品种东农 9674 确实能够在灰斑病菌接种的早期积累羟脯氨酸, 而感病品种羟脯氨酸的积累却有所推迟, 含量上的变化也不如抗性品种那样明显。由于上述糖蛋白的特点之一是羟脯氨酸的含量特别高。因此, 我们对羟脯氨酸含量的测定结果, 在某种程度上是代表了该糖蛋白的积累。Ham- merschmidt 等^[2]也认为这种羟脯氨酸的积累与细胞壁中富含羟脯氨酸糖蛋白含量的增加呈正相关。宋凤鸣、郑重 (1995) 对棉花抗枯萎病的研究认为, 棉苗组织细胞壁羟脯氨酸的含量与棉花的抗病性密切相关^[6]; 郭洋等 (1991) 实验结果表明, 具有抗灰斑病栽培性质的大豆确实能够在灰斑病病原物诱导处理的早期合成大量的细胞壁糖蛋白, 而感病品种则不能较早的合成积累^[7]。这些结果与我们对大豆叶片细胞壁羟脯氨酸含量的测定结果相类似。我们研究的结果还进一步的发现, 接种灰斑病菌后, 抗性品种细胞壁中羟脯氨酸含量的积累能够较持久的维持在一个高的水平上; 而感病品种羟脯氨酸的积累达到一定的高度后却很快的降低, 甚至低于接种前的水平。这一结果可能是由于灰斑病菌的侵入诱导了细胞壁中富含羟脯氨酸糖蛋白含量的积累, 以加固细胞壁起到一种防御作用, 羟脯氨酸的含量随之增加, 随着病原菌的大量侵入这种防御力量逐渐被解除, 引起富含羟脯氨酸的糖蛋白从细胞壁上大量的脱落, 造成羟脯氨酸含量的降低。而抗性品种这种糖蛋白所起的抗性作用较感病品种更加明显、持久。引起上述差异的原因还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 李雄彪、杨中汉, 伸展蛋白的结构、功能、交联和生物合成, 植物生理学通讯, 1990 (3): 7- 9
- 2 Ham merschmidt R, Lampor DTA, Mulden EP, Cell wall hydroxyproline enhancement and lignin deposition as an early event in the resistance of cucumber to *Cladosporium cucumerinum*, *Physiol Plant Pathol* 1984, 24: 43- 47
- 3 蔡武城、袁积厚, 生物物质常用化学分析法, 北京, 科学出版社, 1982, 81
- 4 宋凤鸣、郑重、葛起新, 富含羟脯氨酸糖蛋白在植物病原物相互作用中的积累作用及调控, 植物生理学通讯, 1992, 28 (2): 141- 145
- 5 Esquerre- Tugaye MT, C. Lafitte, D. Mazau, Cell surface in plant- microorganism interaction evidence for the accumulation of hydroxyproline- rich glycoproteins in the cell wall of diseased plants as a defense mechanism,

Plant Physiol 1979, 64 322– 326

- 6 宋凤鸣、郑重, 细胞壁羟脯氨酸和游离羟脯氨酸与棉花对枯萎病抗性的关系, 植物病理学报, 1995, 21(3): 235–241.
- 7 郭洋、麻密、彭生斌等, 植物细胞壁伸展蛋白积累与大豆抗灰斑病关系的研究, 植物病理学报, 1991, 21(3): 217–221

STUDY ON CONENT OF HYDROXYPROLINE IN CELL WALL IN RELATION TO RESISTANCE TO *Cercospora soja* HARA

Zhao Xiaofan Mi Zhongxiang

(Northeast Agriculture University, Harbin 150030)

Abstract The content of hydroxyproline in cell wall is relativey stable when soybean seeding growing is normal. When seedling was infested by *Cercospora soja* Hara, the content of hydroxyroline was increased, and the increase of resistente variety is more than that of susceptible variery. This result show that there exist a close relationship between chang of hydroxyproline content in soybean cell wall with resistance to *Cercospora soja* Hara.

Key words Hydroxyproline; *Cercospora soja* Hara; Resistance