

真菌寡聚糖对大豆生长及植保素产生的影响

刘元召^{1,2}, 赵小明¹, 姜 华², 杜昱光¹

(¹中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023, ²辽宁师范大学, 辽宁 大连 116023)

摘 要:利用热解法从 DL1805 真菌壁上提取寡聚糖(DLO),用浸种法处理大豆种子,处理时间为 4 h,自然条件下播种于盛有灭菌蛭石的塑料筐内,观察 DLO 对大豆生长的影响。结果显示:用浓度为 1、5、50 mg·L⁻¹的寡聚糖处理大豆种子,生长 9 d 后,处理植株生长普遍好于对照植株,并且随处理浓度的增大诱导生长的效果越好,浓度为 50 mg·L⁻¹的效果最为显著,与对照相比,茎粗增加 5% 以上,株高增加 17% 以上,鲜重增加 15% 以上,干重增加 5% 以上,茎干重增加 2.8% 以上。DLO 能诱导大豆植保素的产生,在 5 个处理浓度中随浓度的加大诱导效果也逐渐增强,100 mg·L⁻¹的时候 OD(A₂₈₆)达到 1.103。因此,DL1805 菌壁降解寡聚糖能较好地诱导大豆的生长,并且还能诱导植保素的产生提高大豆的抗病能力。

关键词:寡糖;真菌;植保素;大豆;激发子

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2008)05-0792-03

Effect of Fungal Oligosaccharides on Growth and Phytoalexin Inducement of Soybean

LIU Yuan-zhao^{1,2}, ZHAO Xiao-ming¹, JIANG Hua², DU Yu-guang¹

(¹Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023; ²Liaoning Normal University, Dalian 116023, Liaoning, China)

Abstract: Oligosaccharide from Dalian fungi(DLO) was obtained through thermal cracking of fungal cell wall. In order to study the effects of DLO on growth traits and phytoalexin inducement of soybean, the concentration of 1, 5, 50 mg·L⁻¹ DLO were used to treat soybean for 4 h with seed-immersion method. The results indicated that the plants treated with DLO grew better than that of control. The efficacy of DLO increased with concentration. Under 50 mg·L⁻¹, the stems were 5% thicker, 17% higher and 2.8% heavier than that of control nine days after treatment. The inducement of DLO also increased with concentration and the OD value of 100 mg·L⁻¹ reached 1.103. The results indicate that DLO has the effect of promoting growth and inducing phytoalexin production of soybean.

Key words: Oligosaccharide; Fungi; Phytoalexin; Soybean; Elicitor

20 世纪 80 年代前期, Peter Albershem^[1]教授首先提出寡糖具有调控植物生长发育、繁殖、防病、抗病等功能,并认为寡糖将成为一类新型的植物激素(或称植物调节因子),此后寡糖作为诱导物诱导植物体生理生化变化的特性越来越受到人们的关注,糖生物学成为一个新的研究热点。

寡糖能诱导植物免疫反应、刺激植物生长。人参寡糖素 M 能提高红花培养细胞的生长速率和培养细胞中代谢产物 α-生育酚的含量,缩短红花悬浮培养细胞生长的延缓期^[2-3]。牛蒡寡糖可显著促进

黄瓜幼苗的生长和根系发育,促进壮苗的形成^[4-5],不同浓度的牛蒡寡糖均可以促进草决明的生长^[6]。葡聚六糖能增加黄瓜幼苗叶片内叶绿素含量,提高叶片光合速率和呼吸速率,增强黄瓜幼苗的生活力^[7]。壳寡糖处理能显著增强黄瓜植株抗病性,提高黄瓜产量^[8]。目前,对寡糖在植物上的应用报道比较少,有必要研究开发新的寡糖资源。植物病原菌一方面能引起植物病害,影响农业生产,另一方面,病原菌细胞壁上的寡糖可以诱导植物产生抗病性,被称为激发子,有关病原真菌细胞壁寡糖作为激

收稿日期:2008-01-03

基金项目:国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2006AA10A213,2007AA091601);中科院知识创新方向资助项目(KSCX2--YW-N-007)。

作者简介:刘元召(1983-),男,在读硕士,研究方向天然产物研究。

通讯作者:赵小明,副研究员,博士。E-mail: zhaoxm@dicp.ac.cn。

发子诱导植物抗病性的研究报道比较多,但对真菌细胞壁寡糖对植物生长的影响研究报道很少。因此,利用热解法提取 DL1805 真菌壁寡糖(DLO)并检测了其对大豆植株生长及植保素产生的影响,为以后的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试真菌 DL1805 由实验室自己分离保存菌种。真菌寡糖由实验室分离提取。大豆种子:辽豆 16 由辽宁省农业科学院作物研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 DL1805 真菌细胞壁的制备 根据 Alber-sheim 等^[9]的方法稍作修改,DL1805 真菌培养液用布氏漏斗过滤,收集菌丝体,菌丝体加 5 倍体积 0.5 mol·L⁻¹ NaCl,高速匀浆,匀浆液通过 1 号玻砂漏斗,滤板上铺 37 μm 尼龙布,滤渣先用 0.5 mol·L⁻¹ NaCl 洗涤,每次 500 mL,洗 4 次,然后再用 8L 无离子水和 2L 氯仿-甲醇(1:1 V/V)洗涤,最后用 1L 丙酮洗涤。收集菌体细胞壁,加压真空干燥。

1.2.2 DL1805 真菌细胞壁的热水解 每克菌壁悬浮于 100 mL 水中,于 121℃,加压保温 3 h,冷却后,低速离心,上清液通过 0.22 μm 微孔滤膜过滤,收集滤液。采用旋转蒸发,于 40℃,在减压下,将原有的滤液体积浓缩至 1%。用无离子水充分透析。经过透析后的透析液即为寡聚糖粗提物。

1.2.3 大豆浸种试验 将已长出根芽(大约 0.5 cm)的大豆种子分为若干组,每组 45 粒,浸泡在盛有 15 mL 处理液的培养皿中。DLO 处理浓度分别为:T1,1 mg·L⁻¹;T2,5 mg·L⁻¹;T3,50 mg·L⁻¹;以 H₂O 为对照,浸种时间为 4 h。然后将大豆取出播种于盛有蛭石的塑料筐内,蛭石的厚度约为 5 cm。置于光照培养箱(光照:黑暗/8 h:16 h),25℃下培养 9 d,顶端两片真叶完全展开后从塑料筐内取出置于清水中轻轻洗掉蛭石,用吸水纸吸干多于水分,然后测量各项指标。

大豆指标测量方法:游标卡尺测量大豆茎粗,测量位置位于子叶下面 2~3 mm 处;直尺测量植株地上部分全长作为茎长;大豆植株放于恒温烘箱中 70℃,过夜,然后电子天平称重。

1.2.4 大豆植保素测定 根据 Albersheim 等^[10]的方法进行,DLO 处理浓度依次设为 5,25,50,75,100 mg·L⁻¹,测定 286 nm 下吸收值来表示大豆植保素

的含量。

2 结果与分析

2.1 DLO 对大豆植株性状的影响

2.1.1 DLO 对大豆茎粗的影响 不同浓度的 DLO 都有诱导大豆茎增粗的效果(表 1)。随处理浓度的增加诱导效果有增加的趋势,其中 DLO 浓度为 50 mg·L⁻¹时的诱导效果最好,与对照相比,茎粗增加 5.44%。DLO 浓度为 1 mg·L⁻¹和 5 mg·L⁻¹时的诱导效果分别是 3.31% 和 3.97%。寡糖浓度不同诱导茎加粗的效果也不同说明诱导效果对浓度有依赖性。

表 1 DLO 对大豆植株直径和高度的影响

Table1 Effect of DLO on diameter and height of soybean				
处理 Treatment	直径 Diameter		株高 Plant height	
	平均	比对照	平均	比对照
	Mean/ cm	Increasing/%	Mean /cm	Increasing /%
T1	1.8066	3.31	13.1238	10.79
T2	1.8183	3.97	13.4302	13.38
T3	1.8439	5.44	13.9465	17.74
ck	1.7488		11.8452	

2.1.2 DLO 对大豆株高的影响 3 种浓度的 DLO 与对照相比都有促进大豆长高的作用(表 1),其中 50 mg·L⁻¹的处理效果最好,与对照相比促进茎增高 17.74%,浓度为 1 mg·L⁻¹和 5 mg·L⁻¹时的诱导效果分别是 10.79% 和 13.38%。与对茎粗的影响相同,寡糖对株高的诱导也有浓度依赖性,随寡糖浓度升高大豆植株也越高。经方差分析,清水对照和各药剂处理间的差异达显著水平,说明 DLO 诱导大豆长高的效果是显著的。

2.1.3 DLO 对大豆植株重量的影响 3 种浓度的 DLO 都有促进大豆重量增加的作用(表 2),浓度为 50 mg·L⁻¹时效果最好,促进鲜重增加 15.72,干重增加 5.73%。浓度为 1,5 mg·L⁻¹时与对照相比诱导大豆鲜重增加的效果分别为:11.25%,13.44%,诱导大豆植株干重增加分别为:3.19%,4.96%。3 个浓度与对照相比都有诱导大豆茎干重增加的效果,并且 3 个处理浓度的结果差别不大,分别为:2.72%,2.82%,2.83%。寡糖对大豆整株鲜重和干重的影响都具有明显的浓度依赖性,但对茎干重的影响浓度依赖性却很小,表明寡糖对大豆根的生长影响较大。

表2 DLO 对大豆植株重量的影响
Table 2 Effect of DLO on weight of soybean

处理 Treatment	鲜重 Fresh weight		干重 Dry weight		茎干重 Stem dry weight	
	平均 Mean/g	比对照 Increasing/%	平均 Mean/g	比对照 Increasing/%	平均 Mean/g	比对照 Increasing/%
T1	0.9110	11.25	0.1198	3.19	0.1021	2.72
T2	1.0105	13.44	0.1228	4.96	0.1022	2.82
T3	1.0308	15.72	0.1237	5.73	0.1021	2.83
ck	0.8908		0.1170		0.0994	

2.2 DLO 诱导大豆植保素的产生

DLO 有较好的诱导大豆植保素产生的效果(图1),并且随处理浓度的增加诱导植保素的产生量也逐渐增加。在 DLO 的 5 个处理浓度中 100 mg · L⁻¹ 的诱导效果最好,286 nm 下的 OD 值为 1.103。

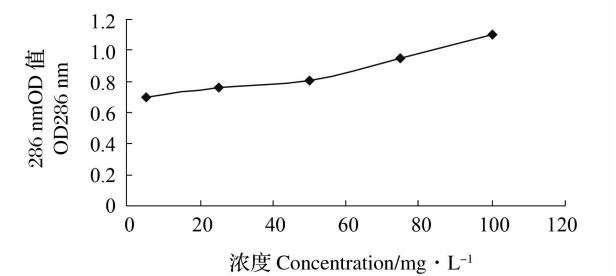


图1 DLO 诱导大豆产生植保素

Fig. 1 Effect of DLO on inducing phytoalexin of bean

3 结论与讨论

对真菌细胞壁的生物学效应进行了初步的研究,结果表明,从 DL1805 菌细胞壁上得到的寡糖能有效的刺激大豆的生长,并能诱导大豆产生抗毒素。大豆产生抗毒素有利于大豆抵抗病害的侵染,对控制大豆的病害有积极的作用。因此,加强该寡糖的研究,将为大豆生产提供一个新的药剂。

DLO 刺激植物生长的最适浓度与诱导大豆产生抗毒素的最适浓度不同,与前人报道寡糖促生长与诱导植物免疫反应的浓度有差异的结果相同,说明寡糖促生长和诱抗的作用机理不同。因此,寡糖既可以作为植物生长调节剂,也可作为激发子,具有双重功能,应用时根据情况选择使用的浓度。同时,结果表明该寡糖可以作为研究促生长和诱抗的材料。

参考文献

[1] Albersheim P, Darvill A G. Oligosaccharides; novel molecules that can regulate growth, development, reproduction and defense against disease in plant[J]. Scientific American, 1985, 253(3): 58-64.
[2] 甘烦远,徐纯,郑光植. 人参寡糖素 M 对红花培养细胞生长与

α-生育酚形成的影响[J]. 植物生理学报, 1992, 18(4): 355-360. (Gan F Y, Xu C, Zheng G Z. Effect of ginseng-oligosaccharin M on the growth rate and α-tocopherol synthesis in cultured cell of carthamus tinctorius[J]. Acta Phytophysiologica Sinica, 1992, 18(4): 355-360.)
[3] 甘烦远,郑光植. 人参寡糖素对三七悬浮培养细胞生长的效应[J]. 广西植物, 1994, 14(1): 70-73. (Gan F Y, Zheng G Z. Effects of ginseng-oligosaccharins on the growth of suspension culture cells from Panax Notoginseng[J]. Guihaia, 1994, 14(1): 70-73.)
[4] 郝林华,陈靠山,李光友. 牛蒡寡糖促进黄瓜生长及抗低温胁迫的生理效应[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2006, 24(1): 6-12. (He L H, Chen K S, Li Y G. Physiological effects of burdock oligosaccharide on growth promotion and chilling resistance of cucumber seedlings[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University(Agricultural Science), 2006, 24(1): 6-12.)
[5] 郝林华. 牛蒡寡糖的制备与结构分析及其对植物生长和抗病性的研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2004: 53-61. (He L H. Study on the preparation and structure analysis of burdock oligosaccharide and its effects on plant growth and disease resistance [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2004: 53-61.)
[6] 孙利军,吴少云,张亚莉,等. 牛蒡寡糖对草决明幼苗生长的影响[J]. 安徽农学通报, 2007, 3(19): 38-39. (Sun L J, Wu S Y, Zhang Y L, et al. The effects of brudock oligosaccharide on the seedling growth of Cassia Obtusifolia [J]. Anhui Agriculture Science Bulletin, 2007, 13(19): 38-39.)
[7] 范海延,曲国富,邵美妮,等. 葡聚六糖对黄瓜幼苗生长及生理特性的影响[J]. 中国蔬菜, 2006(1): 18-20. (Fan H Y, Qu G F, Shao M N, et al. Effects of glucohexase on growth and relative physiological characters of cucumber seedings[J]. China Vegetables, 2006(1): 18-20.)
[8] 张文清,隋雪燕,夏玮,等. 壳寡糖的制备及其对黄瓜的促生长作用[J]. 功能高分子学报, 2002, 15: 199-202. (Zhang W Q, Sui X Y, Xia W, et al. Preparation of chitoligmer and its application to cucumber growth [J]. Journal of Functional Polymers, 2002, 15: 199-202.)
[9] Albersheim P, Darvill A G. Oligosaccharides; novel molecules that can regulate growth, development, reproduction and defense against disease in plant[J]. Scientific American, 1985, 253(3): 58-64.
[10] Albersheim P, Barbara S, Valent B S. Host-pathogen interactions in plants; plants, when exposed to oligosaccharides of fungal origin, defend themselves by accumulating antibiotics[J]. The Journal of Cell Biology, 1978, 78(3): 627-643.