

葡聚六糖诱导后黄瓜叶片几种酶的活性变化动态

范海延^{1,2}, 李宝聚¹, 曲波²

(1. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; 2. 沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳 110161)

摘要: 该文以葡聚六糖为试材, 研究了葡聚六糖叶面喷施诱导后黄瓜幼苗叶片5种酶的活性变化状态, 研究结果表明: 葡聚六糖诱导的黄瓜幼苗叶片中几丁质酶、 β -1, 3-葡聚糖酶、苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶活性明显增加, 而抗坏血酸氧化酶活性呈下降趋势, 这些酶活性的变化可能与葡聚六糖诱导黄瓜幼苗的抗病机制相关。

关键词: 葡聚六糖; 黄瓜; 酶; 诱导抗性

中图分类号: S63 33; S642 2

文献标识码: B

文章编号: 1002-6819(2005)S-0238-02

范海延, 李宝聚, 曲波. 葡聚六糖诱导后黄瓜叶片几种酶的活性变化动态[J]. 农业工程学报, 2005, 21(2): 238- 239

Fan Haiyan, Li Baoju, Qu Bo. Change of pathogen resistance related protein after induced by glucohexase [J]. Transactions of the CSAE, 2005, 21(Supp): 238- 239. (in Chinese with English abstract)

0 引言

蔬菜病害会使蔬菜的生长发育受到严重的影响, 也会危及蔬菜的产量和品质。近年发展起来的环保型植物系统获得性抗病诱导剂, 为解决农产品的农药污染问题提供了一个全新的手段。

葡聚六糖是中国科学院生态环境研究中心首次大量人工合成的一种新型寡糖类抗病诱导剂^[1], 它能激活植物的防卫系统, 同时作为一种糖类物质, 完全能在自然界中降解, 决不污染生态环境。本文以葡聚六糖为试材, 研究了葡聚六糖叶面喷施诱导后黄瓜幼苗叶片几丁质酶、 β -1, 3-葡聚糖酶、苯丙氨酸解氨酶、多酚氧化酶及抗坏血酸氧化酶的活性变化动态, 以期探讨葡聚六糖诱导抗病的作用机制。

1 材料与方法

1.1 供试材料

所有供试黄瓜品种均为山东密刺, 将种子催芽后播在装有草炭土: 蛭石为1: 2(体积比)的营养钵中, 温室中培养, 待黄瓜长至一片真叶时进行叶面喷雾诱导处理。葡聚六糖诱导浓度为10 mg/L, 诱导间隔期为7 d, 连续诱导3次, 对照喷清水。本实验分两个处理: CK0为喷施清水的空白对照; I0为葡聚六糖诱导处理的黄瓜幼苗。分别于最后一次诱导后1、2、4、6、8、10 d取样。每处理60株, 设置3次重复。

1.2 实验方法

几丁质酶活性测定参照Boller(1983)等方法并略加改动^[2], 以每小时生成1 mg N-乙酰葡萄糖胺为一个

活力单位(U); β -1, 3-葡聚糖酶的活性测定参见X. S. Ye等(1990)及F. B. Abeles(1970)的方法并稍加改动^[3], 以每小时每克叶片组织生成1 mg葡萄糖为一个活力单位(U); PAL的提取及活性测定参照薛应龙(1985)等的方法^[4], 以OD值变化0.01为一个酶活性单位; 多酚氧化酶PPO的活性以OD值变化0.001为一个酶活性单位(U); 抗坏血酸过氧化物酶(APOX)活性测定参照沈文飏(1996)方法并略加改进^[5], 以室温下每分钟氧化1 μ mol A SA的酶量作为一个酶活性单位(U)。每项实验重复3次。

2 结果与分析

用10 μ g/mL葡聚六糖叶面喷施诱导后, 黄瓜幼苗叶片中几丁质酶、 β -1, 3-葡聚糖酶、丙氨酸解氨酶(PAL)和多酚氧化酶(PPO)活性明显升高, 其中几丁质酶、 β -1, 3-葡聚糖酶和苯丙氨酸解氨酶活性于诱导后2 d达最高, 多酚氧化酶活性于诱导后4 d达最高, 以后随着诱导时间的延长逐渐降低, 诱导后8 d时降到与空白对照相近的水平(见图1a、b、c、d)。

诱导后黄瓜幼苗叶片中抗坏血酸过氧化物酶(APOX)的活性变化如图1e。结果表明, 葡聚六糖诱导对黄瓜幼苗的APOX活力有一定程度的抑制作用, 在诱导后6 d时APOX活性达最低, 比正常对照下降了11.22%, 之后这种抑制作用逐渐减弱, 到第8 d时恢复到与对照相近的程度。

3 讨论

植物对病原物侵入的生理生化反应是以酶的催化活动来实现的, 寄主防御酶可直接杀菌或催化诱导型抗病物质的合成。在本试验中, 10 μ g/mL葡聚六糖叶面喷施诱导后, 黄瓜幼苗叶片中几丁质酶、 β -1, 3-葡聚糖酶和苯丙氨酸解氨酶(PAL)及多酚氧化酶(PPO)活性分别于诱导后2 d和4 d时达最高, 以后随着诱导时间的延长逐渐降低, 诱导后8 d时降到与空白对照相近的水平。这种变化趋势与葡聚六糖诱导黄瓜抗霜霉病的诱导持续期为7 d, 诱导后2 d人工接种的防效最高这个

收稿日期: 2005-09-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270910); 北京市自然科学基金重点资助项目(6021004; 6001002)

作者简介: 范海延(1974-), 女, 副教授, 博士, 研究方向为植物诱导抗病性。沈阳 沈阳农业大学生物科学技术学院, 110161

通讯作者: 李宝聚(1967-), 男, 研究员, 博士, 研究方向为蔬菜病害、植物诱导抗病性与杀菌剂毒理。北京 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 100081

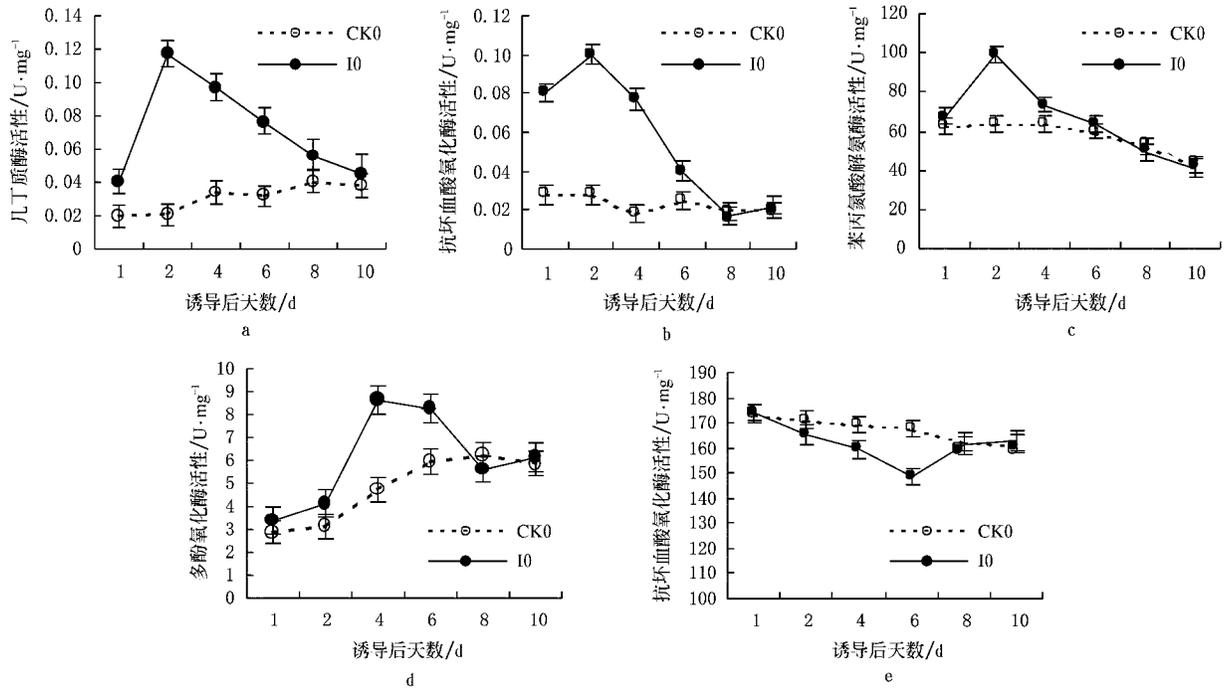


图1 葡聚六糖诱导后黄瓜叶片几种酶的活性变化

Fig 1 Activities of some enzymes in cucumber leaves pretreated with glucosylated hexose

结果相吻合^[6]。葡聚六糖诱导后黄瓜幼苗体内几丁质酶和β1,3-葡聚糖酶含量明显增加,增强了其抵抗病菌侵入的能力;同时诱导后黄瓜幼苗体内PAL和PPO活性增强有利于细胞壁木质素的迅速合成、积累,从时间动态上看,黄瓜幼苗体内PAL和PPO活性的变化趋势与木质素含量增加趋势相一致^[7],并与系统获得抗性表达存在相关性。可见葡聚六糖诱导后,激活黄瓜体内多种防御反应,包括迅速提高病程相关蛋白(几丁质酶和β1,3-葡聚糖酶)、PAL、PPO活性和细胞壁结构物质木质素及HRGP的大量合成,提高细胞壁的结构强度,产生抑菌物质等,从而使黄瓜幼苗产生对霜霉病的系统诱导抗性。

[参 考 文 献]

[1] 宁 君,孔繁祚 Facile syntheses of a hexasaccharide and a nonasaccharide related to the cell wall d-mannan of yeast *Candida A lbicans* [J] Tetrahedron Lett, 1999, 40: 1357

- 1360
 [2] Boller T, Gehri A. Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification, properties and possible function [J] Planta, 1983, 157(1): 22- 31
 [3] Abeles FB, Forrence L E Temporal and hormonal of β1, 3-glucanase in phaseolus vulgaris[J] Plant Physiol, 1970, 45: 395- 400
 [4] 薛应龙 植物生理学测试技术[M] 上海: 上海科学技术出版社, 1985
 [5] 沈文彪,张荣铤 Changes of ability of scavenging active oxygen during natural senescence of wheat flag leaves [J] 植物学报(英文版), 1997, 37(7): 634- 640
 [6] 范海延,李宝聚,吕春茂,等 葡聚六糖诱导黄瓜抗霜霉病的研究[J] 植物保护, 2003, 1(29): 14- 17
 [7] 范海延,李宝聚,宁 君,等 葡聚六糖诱导黄瓜抗霜霉病的生化机理[J] 农业生物技术学报, 2002, 10(3)增: 88- 90

Change of pathogen resistance related protein after induced by glucosylated hexose

Fan Haiyan^{1,2}, Li Baoju¹, Qu Bo²

(1. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: Activity change of five enzymes of cucumber seedling laminae after spraying glucosylated hexose were analyzed. The activities of chitinase, β1,3-glucanase, PAL and PPO are obviously increased after induced by glucosylated hexose, but the activity of APX was decreased, which maybe relates to the mechanism of induced resistance of glucosylated hexose.

Key words: glucosylated hexose; cucumber; enzyme; induced resistance