

植物几丁酶与植物对病虫害的自我防御

韩旭

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所)

几丁酶是分解几丁质类物质的酶蛋白。几丁质类物质包括几丁质和脱乙酰几丁质,是甲壳类动物螃蟹、虾等体细胞的重要组成成分。植物病原菌的细胞壁和昆虫的表皮等,其构成成分也含有几丁质类物质,同时含有 $(1\rightarrow3)-\beta-D$ -纤维素多糖。但是植物自身组织细胞中是不含有几丁质类物质的。尽管如此植物组织中却含有在糖聚体和寡糖中通过水解作用而产生的几丁酶和几丁糖酶。这就使得在自然界中病原微生物或昆虫等与植物接触时,二者间存在细胞水平乃至分子识别水平上的必然联系。探讨二者之间的关系,从而实现人为地控制其相互作用,这在提高植物抗病抗虫能力的研究方面已引起人们的关注。如果将参与几丁酶等生物合成酶的酶基因,人为地导入植物细胞,从而与植物的抗病育种相结合,就可为植物的抗病育种提供一条尚待开拓的新途径。

1 植物几丁酶的存在

植物几丁酶是1965年初在蚕豆和小麦等种子中首次发现的,之后相继在豌豆等种子、花粉、甜瓜和番茄等植物的叶、茎、根中检测出来。不同的植物和不同植物的组织中几丁酶的活性不同。在枫树、小橡子、青冈栎等树木的干和根中可测得几丁酶;从小麦胚芽和山药、甘蓝的叶片中也可测得几丁酶;从大豆中可测得5种几丁酶和3种几丁糖酶。随着几丁酶在越来越多的植物体内的测得,人们已逐渐明确,虽然高等植物体内不存在几丁质类物质,但确实在广泛的植物中存在着几丁酶。

2 植物几丁酶与植物对病虫害的自我防御

当植物感染病原菌或与昆虫接触时,植物细胞就在侵染源细胞壁与之接触的表面,在水解作用诱导下产生几丁酶和 $(1\rightarrow3)-\beta-D$ -纤维素多糖酶,同时诱导产生阻害病原菌增殖的植物抗毒素生物合成酶,使抗毒素的生产大量增加。其中诱导出的几丁酶和纤维素多糖酶在水解作用下分解结合在病原菌细胞壁特异部位的几丁质类物质和纤维素多糖,从而阻害病原

菌的感染和生育。另一方面病原菌细胞壁上的几丁质类物质和低分子化合物还可识别植物细胞的特异部位,活化植物细胞的DNA,使几丁酶等水解酶和植物抗毒素合成酶、抗菌蛋白质合成酶的活性提高,促进植物细胞蛋白质的生物合成,从而诱发植物对病虫害的抵御。植物虽然不能依靠自身的活动,躲避或防止病原菌和昆虫的附着侵害,但植物正是依靠自身存在的几丁酶和纤维多糖酶的酶反应,部分地分解病原菌细胞壁和昆虫表皮,从而防御病虫害的。

3 植物几丁酶和外源脱乙酰几丁质的抗菌作用

豌豆几丁酶可阻害木素木霉毒素菌的生育,其阻害作用是依几丁酶浓度的增加,最低浓度为 $2\mu\text{g/mL}$ 。在感染及非感染木素木霉毒素菌的豌豆叶粗提物中,感染的比非感染的表现出10倍的几丁酶活性,阻害该菌的增殖。如在两种粗提物中添加几丁酶抗体,则几丁酶的活性均会消失。多数的植物几丁酶是碱性蛋白质,但同样的碱性蛋白质的细胞色素C即使浓度在 $10\mu\text{g/mL}$ 也不表现出阻害病原菌增殖的活性。通过乙烯处理可诱导豌豆叶粗提物蛋白质溶液中的几丁酶活性,使几丁酶的浓度达 $130\mu\text{g/mL}$,比未用乙烯处理的表现出很强的阻害病原菌增殖的作用。上述结果说明几丁酶活性是植物阻害病原菌增殖的主体。纤维素多糖酶往往伴随几丁酶的诱导而产生,其作用是协调和促进几丁酶强烈地阻害病原菌的增殖。

外源脱乙酰几丁质的抗菌性是十分显著的。脱乙酰几丁质是几丁质类物质之一,存在于微生物和昆虫的表皮细胞中。土壤中的几丁质分解菌通过分泌几丁酶而使病原微生物和昆虫的死体几丁质分解,从而维系着自然界的植物和昆虫、病原微生物间正常共同生存的生态体系。如果人为地将蟹、虾的壳体几丁质物质投入土壤中,就会增加土壤中的几丁酶生产菌即几丁质分解菌的数量,土壤中的病原微生物如黄枯萎病菌和镰刀菌类,就会被几丁酶生产菌分解,阻害病原菌的繁殖。另外对病原菌的培养试验证明,在培养基中添加0.1%的脱乙酰几丁质,就会完全抑制豆科植物镰刀菌的生育,添加0.02%的脱乙酰几丁质就会抑

黄瓜和芹菜的保鲜方法

陈英奇 赵英杰 李淑春

1 黄瓜的保鲜方法

1.1 低温气调贮藏法 黄瓜每 2~3kg 装入规格为 40×50cm²、膜厚 0.08mm 塑料袋中,然后把袋装入筐中垛起来,放在 3℃恒温库中,气体指标控制在: O₂3%~5%, CO₂8%~10%。此法,可使黄瓜贮藏一个月。

1.2 沙藏法 在寒流来前一天,给秋黄瓜浇水,让其充分吸水。摘取黄瓜时,用剪刀从瓜柄处剪下,轻拿轻放,随摘随藏。贮藏时,将炒干备用的细沙(消毒灭菌)喷洒清水,然后将湿沙铺在缸底 2~3cm 厚一层,随后放一层黄瓜,再铺一层湿沙,依层放黄瓜,共铺 7~8 层黄瓜。然后将缸置于 10℃~15℃的室内,可贮存 30d。

1.3 缸藏法 刷净缸,并盛 5~10cm 深的清水,在水中放一井字形或工字形的木架,高出水面 6~10cm,架上再放竹帘子,在竹帘子上平放黄瓜,瓜蒂向内,沿缸壁转圈摆放,离缸口 10cm 时为止,缸口用牛皮纸封严,将缸放在 10℃~15℃的室内,可贮存 30d 左右。

2 芹菜的贮藏方法

2.1 地下埋藏法 先挖 0.5m 宽、1.0m 深的地沟,待温度降到 0℃以下时,把芹菜贴沟壁竖放进沟内,用草苫盖住,然后埋 10cm 厚的土,随温度降低逐渐加土,并定期向上浇水,大约每隔半月左右浇一次水,洒水时间和多少视土层的干湿情况而定。

2.2 假植贮存法 先挖宽约 0.8m、深 1.0m 的沟,将芹菜带土挖出,单株或多株或成捆假植在沟内,然后灌水淹没根部,以后视土层湿度情况每隔一段时间灌一次水。每隔 1m 左右在芹菜间横架一束高粱秸,在沟的两侧每隔一定的距离顺沟内壁垂直挖通风道,沟顶可用草苫封盖,天冷时加盖草苫,再覆盖细土,并堵平通风道。(黑龙江省龙江县农业技术推广中心 161100)

所有的生物。但对自然界最大的生物合成物质的开发利用的研究不够重视,几丁质类物质的利用也仅限于低水平上的工业用防水粘合剂的生产,美国该生产量较大;日本次之,但日本已注重了较大规模的利用研究;我国该方面生产极少。几丁质类物质的应用将是人类开发自然生物资源的新热点。目前在农业上的应用研究主要是可将其为原料,生产植物保护保健类药剂或生长调节剂,其前景较佳。国内外有关研究者已着眼于该方面研究工作。此外在目前被人们瞩目的生物工程研究领域也可应用几丁质类物质,可做为具有独特功效的培养基添加剂。对植物几丁酶的应用研究,在转基因方面可用于抗病品种的选育,这是育种者十分关注的研究新领域。(北京市白石桥路 30 号 100081)

制大肠菌的生育,可见脱乙酰几丁质抑制病原菌生育的浓度,因病原微生物种类的不同而异。在镰刀菌的培养中,³H 菌体 RNA 的量与添加脱乙酰几丁质的量,在抑菌效果上成比例地增加。添加 460μg/mL 脱乙酰几丁质就会完全抑制该菌生育,其抑制作用表现为阻碍镰刀菌 RNA 的生物合成。另外低分子脱乙酰几丁质比高分子脱乙酰几丁质抑制病原微生物的繁殖只需较低的浓度。

4 植物几丁酶和纤维素多糖酶的诱导

植物几丁酶的诱导在自然条件下是通过病原菌感染实现的。病原菌的菌体和脱乙酰几丁质均可直接诱导植物几丁酶的产生。如在未熟豌豆荚中使脱乙酰几丁质和镰刀菌孢子接触就可诱导出几丁酶、纤维素多糖酶和乙烯。如使甜瓜叶感染 *Colletotrichum lagenarium* 病原菌,或将其叶和幼苗用该菌的菌丝体处理均会诱导出几丁酶。将烟草花叶病毒感染烟草也会诱导产生几丁酶。单糖不能诱导几丁酶,而六糖和七糖则会诱导几丁酶产生。分别用寡糖含量 10, 25, 50, 100μg/mL 的液体,通过子叶注入到甜瓜幼苗体内,可测得几丁酶的活性逐渐增强,注入后 6h 就会在体内产生几丁酶,12~24h 达最高含量。在 Murasige-skoog 培养基上培养甘蓝的叶片外植体愈伤组织时,若在培养基中添加 0.1% 羟甲基脱乙酰几丁质及 0.05% 分子量约 3000D_r 的低分子脱乙酰几丁质,会诱导出较多的胍胍几丁酶。在土豆种子发芽初期以低分子脱乙酰几丁质覆盖种子处理,可诱导体内的几丁酶产生。植物细胞中产生的几丁酶集聚在液泡中,由液泡的破裂或主动运输分泌到细胞外。

5 植物细胞的活性化

病原微生物和昆虫侵害植物时,以及用几丁质类物质或加热、机械地人工处理植物,不单诱导植物几丁酶的活性,同时伴随着多种生物酶的相关反应,从而提高抗性蛋白质的生物合成,使植物细胞活性化。可见植物自身所具有的细胞活性化的本能,对抵御外来侵害是十分重要的。这也为人类在植物的人工保护,促进其生长发育,防御病原微生物和昆虫的危害方面,应用几丁质类物质提供了可能。例如在 Murasige-skoog 培养基中进行甘蓝叶外植体愈伤组织的培养,如添加重合度 2~8 的脱乙酰几丁质寡糖或分子量 3000D_r 的低分子脱乙酰几丁质,会分别比不添加的提高愈伤组织的生育 1.5 倍和 1.2 倍。

6 植物几丁酶、几丁质类物质应用前景

明确了植物几丁酶和几丁质类物质以及植物对病虫害的防御机制三者间的关系后,就可实现人为目标的开发应用研究。几丁质类物质是自然界最大的生物合成物质,多为海洋、湖泽生物产物,以及微生物产物。已往人类的研究多数涉及的仅是如何提高自然中人类可直接食用或利用的生物产量,这些研究几乎包括了