

大丽轮枝菌寡糖素诱导的棉花组培细胞的过氧化物酶表达分析*

刘曼西 荆迎军

(华中科技大学生命科学与技术学院, 武汉 430074)

摘要: 将已在察氏液体培养基中培养 3 d 的强毒性(V44)或弱毒性(V64)大丽轮枝菌接种到新鲜的相同培养基中, 加入棉花黄萎病感品种(S)或抗病品种(R)的悬浮培养细胞(或其细胞匀浆)。培养 4 d 后收获真菌孢子, 用于致萎力测定, 收获菌丝体细胞壁用于制备真菌寡糖素(H, 来自 V44 或 L, 来自 V64), 然后用该寡糖素诱导悬浮培养的棉花细胞(S 或 R)。棉花细胞的过氧化物酶(POD)同工酶结果表明: (1) 所有寡糖素均诱导棉花细胞产生新的过氧化物酶; (2) 感病品种豫棉 6 号的活组培细胞 S(或其细胞匀浆)显著影响真菌, 用生长过程中接触该活细胞(或其细胞匀浆)的真菌所制备的寡糖素再诱导该活细胞(即 S L(H) S)时, 棉花细胞在 36 h 的 POD 同工酶谱与其对照, 即 L(H) S 比较, 酶带增减变化显著。致萎力测定结果表明感病品种的活细胞提高了病原毒性和致病力; (3) 耐病(豫棉 8 号)或抗病品种(中棉 12 号)的活组培细胞 R(或其细胞匀浆)对真菌的影响不同于感病品种。R L(H) R 在 36 h 的 POD 同工酶谱与 L(H) R 比, 酶带没有增减变化。但是在 H R 或 H S 中于 9 h 和 24 h 出现的酶带在 R H R 或 R H S 中分别提前到 6 h 和 9 h, 致萎力测定结果表明抗病品种细胞对病原毒性影响很小。

关键词: 寡糖素; 过氧化物酶; 棉花; 大丽轮枝菌

中图分类号: Q945; S432.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2002)06-0457-06

The Peroxidase Isoenzymes of Suspending Culture Cells of Cotton Induced by the Oligosaccharins from *Verticillium dahliae*

LIU Man-Xi, JING Ying-Jun

(College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: The living cell culture of cotton or its homogenates from *V. dahliae*-susceptible variety (S) or resistant variety (R) were added into the Czapeks liquid media which had been inoculated 3 d with the higher virulent strain(V44) and lower virulent strain(V64) of *V. dahliae* respectively. After 4 d additional incubation, the spore of these fungus were collected each to evaluate their wilting or virulence to cotton plants, and the cell wall of the hypha were used to prepare oligosaccharins(H, from V44 and L, from V64) which were as elicitors to induce the cell cultures of cotton. (S or R) The PAGE spectrums of POD isozymes from cotton cells showed that (1) all oligosaccharins induced cotton cells to produce new POD isozymes; (2) the living cotton cells or its homogenate from susceptible variety affected strongly the fungus. The cotton POD spectrum at 36 h after induction showed that in all the inducing systems, the most outstanding diversity is between S L(H) S and their control, i.e. L(H) S, i.e. the oligosaccharins from the fungi contacted with the living cotton cells or its homogenate from susceptible variety induced the most strong change of POD isozymes in the living cotton cells from susceptible variety, as compared

with the control, L(H) S. The wilting result showed the living cotton cells from susceptible variety increased the virulence and pathogenicity of the fungi; (3) the impact of living cotton cells or its homogenate from resistant variety on the fungi is different from susceptible one. There is no change of enzyme bands, but the new enzymes occurred at 9 h in H R and 24 h in H S after induction were ahead to 6 h in R H R and 9 h in R H S. The wilting result showed the living cotton cells from resistant variety had little influence on the virulence and pathogenicity of the fungi.

Key words: Oligosaccharins; Peroxidase; Cotton; *Verticillium dahliae*

从 20 世纪 80 年代开始, 激发子-植物组培细胞作为研究植物细胞防御机制的理想体系受到植物病理学研究者的肯定^[1-4]。激发子是指能诱导植物产生过敏反应等防卫反应的物质, 其中植物或真菌细胞壁来源的激发子由于具有广谱性而被广泛使用。细胞壁激发子的使用源于发现在病原侵染和植物抗病过程中真菌或植物的细胞壁中的一些特异的多糖水解酶活性有显著的增加, 显然细胞壁发生了有限或局部的水解^[5]。一般认为真菌引起的植物细胞壁的水解与病原菌的毒性或侵染有关, 而植物引起的真菌细胞壁的水解与植物的抗性相关^[5], 因此研究中更多使用真菌细胞壁人工降解产物——真菌寡糖素作为激发子。大量的研究结果还指出防御过程中植物细胞壁的许多氧化还原酶和 ATP 酶活跃, 导致植物细胞壁结构变化, 例如富含哺氨酸的蛋白质和酚类物质交联沉积等, 这些变化有利于植物防御^[1-4]。近期有报告指出, 悬浮培养的法国豆细胞被激发子作用后, 控制蔗糖进出细胞壁多糖(果胶、半纤维素和葡聚糖)流量的酶活性发生变化, 细胞的 UDP-glucose pyrophosphorylase 引起转基因烟草纤维素含量增加, 而 GDP mannose pyrophosphorylase 引起转基因植物细胞壁甘露糖含量增加^[6]。这些结果提示植物细胞壁多糖在病原侵染时可能发生结构变化。但是有关真菌细胞壁在这一过程中的变化尚缺乏报告。笔者拟组合不同黄萎病感抗性的棉花悬浮细胞系和不同毒性的黄萎病原菌——大丽轮枝菌, 形成若干交互诱导体系, 通过比较被诱导的真菌的细胞壁水解产物——真菌寡糖素对悬浮培养的棉花细胞的过氧化物酶(POD)(E. C. 1. 11. 1. 7)同工酶的影响, 分析寄主植物细胞对真菌细胞壁的作用, 并通过致萎力测定了解与寄主植物细胞接触, 是否改变真菌的毒性或侵染力。

1 材料与方法

1.1 材料

棉花材料包括: (1) 棉花黄萎病感病品种鄂棉 18(EM 18)和豫棉 6 号, 耐(抗)病品种豫棉 8 号、中

棉 12 和川棉 239(CH239), 种子由华中农业大学吴征斌教授惠赠, 温室无菌土栽种; (2) 本室诱导的棉花悬浮培养细胞系 S6(来自豫棉 6 号)、R8(来自豫棉 8 号)、S18(来自鄂棉 18)、R12(来自中棉 12)、R239(来自川棉 239), R 表示抗(耐)性, S 表示感性。在 MS 培养基上继代, 培养基组成: MS, KT 0.1 mg/L, 2, 4-D 0.1 mg/L, 抗坏血酸 100 mg/L, 蔗糖 25 g/L, 温度 25 ~ 26, 光照强度 1500 ~ 2000 lx, 光照时间 16 h/d, 旋转培养, 摆床转速 120 r/min, 继代时间 12 d。

真菌材料包括棉花黄萎病致病菌——大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.)的强毒株(V44)和弱毒株(V64), 由华中农业大学棉花抗病育种室惠赠, 保存在马铃薯蔗糖培养基斜面上, 保存温度为 4。使用时, 经马铃薯蔗糖培养基平板活化, 转入新鲜平板中继续培养 7 d, 收获孢子, 转入察氏(Czapeks)液体培养基, 旋转培养, 3 d 后转入新鲜察氏培养基中继续培养 4 d, 摆床转速 120 r/min, 培养温度均为 28。

1.2 方法

1.2.1 诱导实验

棉花细胞(细胞匀浆)诱导真菌实验。在无菌条件下, 抽滤收获已培养 10 d 的棉花细胞, 并用 2% 的蔗糖溶液洗涤 3 次, 在 20 000 r/min 匀浆。将悬浮培养 3 d 的真菌转入加有活的棉花细胞或细胞匀浆的新鲜培养基中, 棉花细胞(匀浆)的含量(湿重)为 1 g/L, 继续培养真菌 4 d。

大丽轮枝菌寡糖素诱导棉花细胞实验。按文献[7]制备大丽轮枝菌菌丝细胞壁水解产物, 作为真菌寡糖素, 测定其糖含量, 在已培养 10 d 的悬浮培养的棉花细胞中加入寡糖素, 使其含量相当于 30 mg/L 的葡萄糖, 继续培养棉花细胞 2 d, 在此期间按一定时间均匀取样。

1.2.2 棉花细胞 POD 同工酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳

减压抽滤收集棉花细胞, 用 50 mmol/L 磷酸盐

缓冲液(pH 7.0)洗涤,然后按1·2(m/v)的比例重新悬浮于磷酸盐缓冲液中,研磨破碎细胞,4000×g离心,分别收集上清液和沉淀。按照文献[8]测定上清液的可溶性蛋白质含量和过氧化物酶(POD)活性,以确定电泳的上样量,按文献[9]测定POD同工酶。

1.2.3 病原真菌致萎力测定

在温室中进行,脱绒种子经1% HgCl₂消毒,28无菌水浸种8 h催芽后,无菌土盆栽,光照强度2000 lx,光照时间16 h/d,温度26,湿度70%。当棉苗长至第1片真叶完全展开时,选择长势均匀的鄂棉18和川棉239的幼苗各分为4组,每组50株。从钵底剪断棉苗主根和部分侧根,分别蘸取10 mL V44孢子悬液、S18诱导的V44孢子悬液和R236诱导的V44孢子悬液,所有孢子悬液的密度均为10⁷个/mL。温度设为白天26,晚上18。继续培养30 d,并观察棉花萎蔫情况,统计发病率并评定病

级。病级评定标准参考文献[10],即:0级——健苗,无病症;1级——1~2片子叶表现病症;2级——2片子叶或1片真叶表现病症;3级——2片真叶表现病症;4级——叶片全部脱落,顶心枯死。

2 结果

2.1 交互诱导对棉花细胞POD同工酶谱的影响

已知植物POD与多种生理功能有关,棉花受感染后诱导产生多种POD同工酶,其作用可能是参与木质化、栓质化、植保素合成和细胞凋亡等防御过程。根据文献报道,棉花子叶受病原细菌侵染后POD诱导酶全部出齐大约需要24 h^[11],据此,我们选择最长诱导时间为36 h。

表1列出豫棉8号的组培细胞(R8)和豫棉6号的组培细胞(S6)受大丽轮枝菌寡糖素诱导36 h的POD同工酶电泳图谱的统计结果(电泳图谱未显示)。为说明方便,定义酶带变化数C,表示为X/Y,和酶谱差异显著度D, D= X+ Y(见表1注)。

表1 大丽轮枝菌寡糖素诱导36 h时棉花组培细胞的POD同工酶谱的比较

Table 1 The comparison of POD isozyme spectrums from cotton cell cultures induced with oligosaccharins from *V. dahliae* at 36 h

诱导类型 [*]	棉花	大丽轮枝菌(H)	棉花细胞	酶带位置 ^{**}											酶带变化数C ^{***} The change of POD	差异显著度D ^{***} The difference of POD		
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
诱导类型 [*]	Cotton	V. dahliae	Cotton cells	R (control 1)	+	+												
				S (control 1)	+													
	CK1	H	R	R (control 2)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2/0	0	2	
				S (control 2)	+	+			+	+	+				3/0	0	3	
				L (control 2)	+	+			+	+	+				1/0	0	1	
	CK2	L	S	R (control 2)	+	+			+	+	+				4/0	0	4	
				R (control 2)	+	+			+	+	+	+						
				R (control 2)	+	+			+	+	+	+						
R H R	Ra	H	R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2/0	0/0	2	0
	Rb	H	R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2/0	0/0	2	0
	Ra	L	R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2/0	1/0	2	1
	Rb	L	R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2/0	1/0	2	1
S H S	Sa	H	S	+		+	+	+							2/0	2/3	2	5
	Sb	H	R	+		+	+	+							2/0	2/3	2	5
S L S	Sa	L	S	+		+	+	+							2/0	2/4	2	6
	Sb	L	S	+		+	+	+							2/0	2/4	2	6
S H R	Sa	H	R	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	1/1	0/2	2	2
	Sb	H	R	+		+	+	+							2/3	0/3	5	3
S L R	Sa	L	R	+		+	+	+							2/3	1/3	5	4
	Sb	L	R	+		+	+	+							2/4	1/4	6	5

续表 1

诱导类型 [*] 棉花 大丽轮枝菌(H) 棉花细胞 Induced types Cotton <i>V. dahliae</i> Cotton cells	酶带位置 ^{**} The order of POD in the spectrum											酶带变化数 C ^{***} The change of POD		差异显著度 D ^{***} The difference of POD	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	C1 X ₁ /Y ₁	C2 X ₂ /Y ₂	D ₁ X ₁ +Y ₁	D ₂ X ₂ +Y ₂
R H S	Ra H S	+	+			+	+	+	+			4/0	1/0	4	1
	Rb H S	+	+			+	+	+	+			4/0	1/0	4	1
R L S	Ra L S	+	+			+	+	+	+			4/0	0/0	4	0
	Rb L S	+	+			+	+	+				3/0	0/1	3	1

* R 是耐黄萎病品种的组培细胞 R8, S 是感黄萎病品种的组培细胞 S6, Ra 和 Sa 代表 R8 细胞和 S6 细胞, Rb 和 Sb 代表 R8 细胞匀浆和 S6 细胞匀浆。H 代表大丽轮枝菌强毒株及其寡糖素, L 代表大丽轮枝菌弱毒株及其寡糖素。

** 将所有染色条带沿原点到前沿方向依次编号。

*** C 表示为 X/Y, D= X+Y, X= 与对照比较增加的酶带数, Y= 与对照比较减少的酶带数, X₁ 和 Y₁ 的对照为 CK1, X₂ 和 Y₂ 的对照为 CK2。

* R is R8 and S is S6, which is cultured cells from the *V. dahliae* -resistant (YM 8) and susceptible (YM 6) variety each; Ra or Sa is cells of R8 or S6, and Rb or Sb is homogenate of R8 or S6; H is a strain of *V. dahliae* with higher toxicity or its oligosaccharides, and L is with lower toxicity.

** All the enzyme bonds were numbered from origin to front.

*** C is X/Y, D= X+Y, X is the increase number as compared with the control, Y is the decrease number as compared with the control; The control of X₁ and Y₁ is CK1, i.e. untreated cotton cells (R or S); the control of X₂ and Y₂ is CK2, i.e. treated cotton cells by the elicitor from *V. dahliae*, H (L) - R (S)

从表 1 可以看出, C1 和 D1 反映大丽轮枝菌寡糖素对棉花细胞 POD 同工酶的影响。与未受刺激的棉花细胞(CK1)相比, 所有寡糖素都引起受试材料出现新酶带(正效应), 其中耐病品种的组培细胞对强毒株寡糖素的响应略高于对低毒株的响应, 而感病品种的组培细胞则相反。C2 和 D2 反映棉花细胞(匀浆)对大丽轮枝菌寡糖素活性的影响。可以看出两点: (1) 生长过程中接触过耐病品种的组培细胞或细胞匀浆, 不论是弱毒株还是强毒株, 其寡糖素制剂均出现新的诱导活性, 与受初级激发子作用的棉花细胞(CK2)相比, 即 R L R 与 L-R 比, R H S 与 H-S 比, 在与对照酶谱相同的基础上出现了新的同工酶(正效应); (2) 生长过程中接触过感病品种的组培细胞或细胞匀浆的真菌, 其寡糖素制剂诱导感病品种活细胞(即 S L(H) S)时, 细胞 POD 同工酶谱与其对照, 即 L(H) S 比较, 酶带增减变化显著, 如诱导耐病品种的组培细胞, 则受诱导细胞的 POD 同工酶谱与其 CK2 比较, 基本上是负效应。说明敏感性棉花细胞对病原菌细胞壁的影响大于耐抗性棉花细胞。

2.2 交互诱导对棉花细胞 POD 同工酶谱时间过程的影响

Martinez 等^[12] 证明带有抗病基因的棉花子叶的一种与过氧化氢发生有关能致凋亡的阳离子过氧化物酶(pH 9.5)在病原细菌感染后 3 h 出现, 而阴离子过氧化物酶大约在接种后 10 h 出现。

我们用棉花组培细胞获得的结果见图版 I, 由于采用的是酸性环境活性染色, 图版中的高活性酶带可能代表阴离子过氧化物酶。图版 I: 4 显示, 来自抗病品种中棉 12 的组培细胞 R12 受诱导后 9~12 h 出现新的酶带, 这与 Martinez 的结果是一致的。

就其诱导 36 h 时的 POD 同工酶的酶带位置和酶带数目而言, 真菌寡糖素对 R12 和感病品种的组培细胞 S18 的影响与 2.1 中 R8 和 S6 结果基本一致: (1) 受寡糖素作用的棉花细胞均产生新同工酶(正效应); (2) S18 削弱了大丽轮枝菌寡糖素对 R12 的诱导活性。表现为 R12 受初级激发子 H 作用后出现的 2 条新带 a 和 b(图版 I: 4)在次级激发子 S18 H 诱导的 R12 同工酶谱(图版 I: 8)中明显减弱了。与 2.1 的结果不一致的是 S18 并未影响大丽轮枝菌寡糖素诱导 S18 同工酶的活性, 即 S18 H S18(图版 I: 5)和 H S18(图版 I: 3)有相同的 POD 同工酶谱。

从同工酶谱随时间的变化还可以看出另一种正效应, 即一些在初级激发子诱导时出现的同工酶当使用次级激发子时, 其活性增强或者出现时间提前。图版 I: 3 和图版 I: 4 分别显示受初级激发子作用后, 敏感的 S18 在 24 h 时有酶带 a', 抗性的 R12 在 9 h 时有酶带 a 和 b, 而经 R18 诱导的次级激发子 (R12 H) 作用后, S18 的酶带 a' 在 9 h 出现(图版 I: 6), R12 的酶带 a 和 b 在 6 h 时出现, 在 9 h 以后增加非常显著(图版 I: 7)。

2.3 交互诱导对病原真菌致萎力的影响

感病品种的组培细胞提高了病原毒性和感染力, 使接种该病原孢子的感抗性棉花植株的黄萎病

发生率和病情指数与对照相比明显增加, 抗病品种的组培细胞对病原致萎力影响很小(表 2)。

表 2 接种大丽轮枝菌的棉株 1~4 周发病率与病情指数

Table 2 The incidence of wilting and disease index of cotton plants in fourth week after inoculating *V. dahliae*

处理 Treatment	第 4 周发 病率(%) [*] Incidence of wilting in the fourth week	平均发 病率(%) [*] Average incidence of wilting	方差 σ^2	第 4 周病指(%) Disease index in the fourth week	平均病指(%) ^{**} Average disease index	方差 σ^2
V44 EM 18(S) (control)	33.3	14.8	0.0298	27.5	12.3	0.020
S18 V44 EM 18	57.0	30.3	0.058	40.2	21.9	0.030
R239 V44 EM 18	38.7	22.8	0.029	31.5	18.5	0.022
V44 CM 239(R) (control)	23.3	9.0	0.012	10.0	4.6	0.003
S18 V44 CM 239	46.7	23.5	0.038	31.7	17.5	0.018
R239 V44 CM 239	23.3	11.5	0.009	14.2	7.1	0.004

* 发病率=发病株数/统计株数×100%。

** 病情指数= \sum 病级×病株数/最高病级×株数×100%。

* Incidence of wilting= wilting plants/statistical plants × 100%.

** Disease index= \sum order of disease × number of ill plants/the highest order of disease × number of plants × 100%.

3 讨论

植物 POD 具有分子多态性, 参与多种生理过程, 易受各种内因(基因调控、激素或离子调控)和外因(干旱、盐碱、温度变化等各种胁迫及病菌侵染等)的单独或综合作用^[11~12], POD 同工酶与棉花黄萎病抗性的相关性近期也有报道^[13], 故选择 POD 作为观测指标可以比较灵敏地反映棉花细胞和病原真菌的相互作用。本文中大丽轮枝菌的初级激发子和次级激发子均来自菌丝细胞壁多糖的人工降解, 因此两类激发子诱导的棉花细胞 POD 同工酶谱之间存在显著差异从功能上表明寄主棉花细胞的确干扰了大丽轮枝菌细胞壁多糖的结构。

虽然植物响应病原激发子作用以 POD 变化, 但是 POD 变化的确切意义是不清楚的。病原激发子引起的新增 POD 酶带, 有可能与致病或防御有关, 并可通过进一步比较抗病品种和感病品种间的差异来确定与防御有关的同工酶。但是这需要遗传背景基本一致的近等位基因品系, 对于遗传背景差异显著的抗病和感病品种, 进行这种比较所获结论与实际相比, 可能存在一定的偏差。本研究使用的交互诱导体系可能在一定程度上克服遗传差异引起的分析困难。按表 1 中的 D2 等级, 即综合考虑酶带数目和位置的变化, 各交互诱导体系排列为 S L S(6, 6), S H S(5, 5), S L R(4, 5), S H R(3, 2), R L R, R H S(1, 1), R L S(1, 0), R H R(0, 0) (括弧中的数字是表 1 给出的每类诱导体系

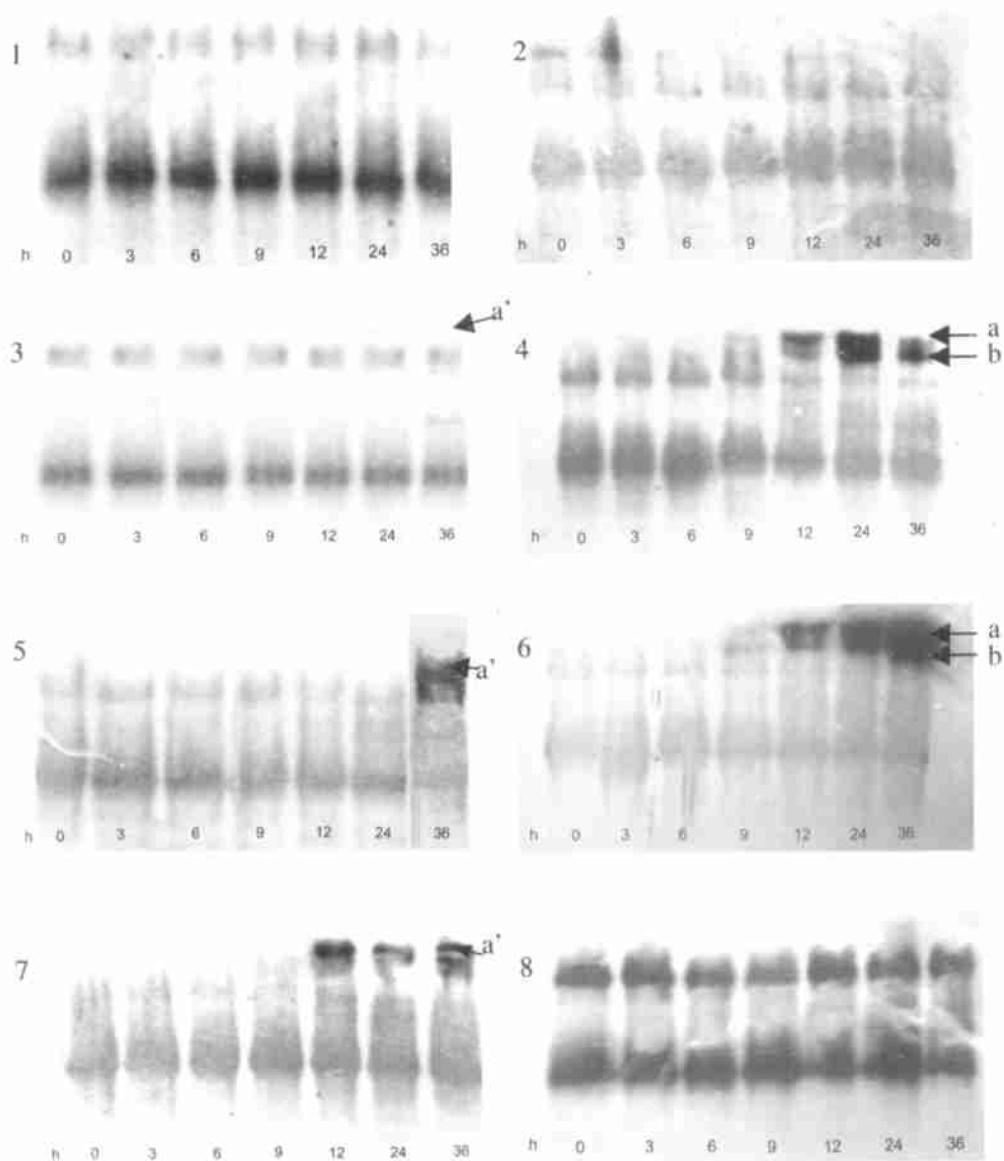
中两诱导组合的 D2 值)。如果将 S L(H) S 或 R L(H) R 称为单纯交互体系, S L(H) R 或 R L(H) S 为复杂交互体系, 可以看出: (1) 感病品种棉花细胞与大丽轮枝菌间有最强的相互作用, 耐抗病品种棉花细胞与大丽轮枝菌间有最弱的相互作用。这与表 2 所示棉花细胞对大丽轮枝菌致萎力的影响是一致的, 这就表明植物细胞对病原激发子的影响与植物细胞对病原的毒性或侵染力的影响有可比性。因此 POD 同工酶谱所示 S L S 或 S H S 对 L S 或 H S 的正效应, S L R 或 S H R 对 L R 或 H R 的负效应可能与病原的毒性或侵染力加强有关。在 V44 R12 同工酶谱中(图版 I: 4)有而在 S18 V44 R12 同工酶谱中(图版 I: 8)显著减弱的 2 条酶带 a 和 b 可能与该品种的抗病性相关。

寡糖素作为潜在植物调节剂已经受到农业生产的重视, 我们也测定了受大丽轮枝菌寡糖素诱导的感抗性棉花细胞的细胞提取物和细胞壁制剂对大丽轮枝菌强毒株 V44 的抗菌性, 结果表明寡糖素显著提高了棉花细胞组分对病原真菌的抑制作用, 作用与诱导用病原的毒性无关(数据未发表)。但是目前寡糖素尚未成为真正有效的调节剂, 这是因为对其作用机理还缺乏深入了解。使用同一种植物的不同品种得到的大量结果已经表明植物的抗性不在于有更多的抗病蛋白质或机制, 而在于更快地启动或打开这些机制, 植物抗病品种通常比感病品种能更快地启动这个机制^[1~4]。因此, 本文关于交互诱导对

POD 同工酶谱的时间效应, 即与初级激发子比较, 受抗病品种的棉花细胞诱导的次级激发子可使棉花细胞的某些 POD 响应显著地提前和增强, 其意义在于暗示抗病棉花品种的抗病性能中可能包括某种对真菌细胞壁水解产物——寡糖素的识别和修饰, 经过宿主细胞防御识别修饰过的寡糖素或细胞壁将能更快地激活棉花细胞的防御反应。因此在开发真菌寡糖素一类植物调节剂时, 研究植物对其的修饰可能是必要的。

参考文献:

- [1] Dixon R A, Lamb C J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1990, **41**: 339—367.
- [2] Baker C J, Orlandi E W. Active oxygen in plant pathogenesis. *Annu Rev Phytopathol*, 1995, **33**: 299—321.
- [3] Zhang S Q, Du He, Klessig D F. Activation of the tobacco SIP kinase by both a cell wall-derived carbohydrate elicitor and purified proteinaceous elicitors from *Phytophthora* spp. *Plant Cell*, 1998, **10**: 435—450.
- [4] Yamaguchi T, Yamada A, Hong N, et al. Differences in the recognition of glucan elicitor signals between rice and soybean: β -glucan fragments from the rice blast disease fungus *Pyricularia oryzae* that elicit phytoalexin biosynthesis in suspension-cultured rice cells. *Plant Cell*, 2000, **12**: 817—826.
- [5] Mozzetti C, Amateis N, Matta A. Differential responses of cell suspensions of pepper lines susceptible and resistant to *Phytophthora capsici* Leo. to cell wall and culture filtrate elicitors of *Phytophthora* spp. *J Plant Pathology*, 1997, **79** (1): 27—34.
- [6] Bolwell G P. Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 2000, **12**(65): 143—160.
- [7] 黄鲲, 刘曼西. 病原真菌细胞壁对棉花 β -1,3-葡聚糖酶的诱导. 华中理工大学学报, 1998, **26**(7): 103.
- [8] 李如亮. 生物化学实验. 武汉: 武汉大学出版社, 1998.
- [9] 张龙翔, 张廷芳, 李令媛. 生化实验方法和技术. 北京: 高等教育出版社, 1981.
- [10] 顾本康, 马存. 中国棉花抗病育种. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996.
- [11] Hiraga S, Sasaki K, Ito H, et al. A large family of class III plant peroxidases. *Plant Cell Physiol*, 2001, **42**(5): 462—468.
- [12] Bruce A. Abolition of an inducible highly anionic peroxidase activity in transgenic tomato. *Plant Physiol*, 1993, **101**: 201—208.
- [13] 马峙英, 刘叔倩, 王省芬, 等. 过氧化物酶同工酶与棉花黄萎病抗性的相关性研究. 作物学报, 2000, **76**(4): 431—437.



大丽轮枝菌寡糖素作用后 3~36 h 内棉花组培细胞 POD 同工酶的 PAGE 电泳图谱

PAGE photographs of POD isoenzymes of cotton culture cells induced by oligosaccharins from *V. dahliae* for 3~36 h. 1. S18 (control 1); 2. R12 (control 1); 3. H-S18 (control 2); 4. H-R12 (control 2); 5. S18-H-S18; 6. R12-H-S18; 7. R12-H-S18; 8. S18-H-S18