

植物细胞壁寡糖素的生理功能

何 才 平

(武汉大学生物系)

植物细胞与动物细胞的最大区别之一是植物细胞在质膜以外还有一层细胞壁。长期以来,人们认为细胞壁的作用仅是决定细胞的大小、形状和韧性。10多年前,Ayers等发现一种真菌细胞壁中释放出具有寡聚葡萄糖结构的分子,它能诱导这种真菌的宿主产生植物抗毒素(phytoalexin),由此推测细胞壁可能具有多种生理功能^[1,2]。不久,Hargreaves等又发现受伤的菜豆细胞壁提取物能诱导菜豆培养物产生抗毒素^[3,4]。至此,人们开始怀疑过去关于细胞壁功能的简单化的解释。此后几年的深入研究发现:细胞壁结构之复杂、功能之广泛,远远超出了人们的意料。研究者们肯定了细胞壁中的一些寡糖片段对于植物的抗逆性、生长速度、形态发生等方面的调节功能,并赋予那些能调节生理过程的寡糖片段一个新名称:寡糖素(oligosaccharin)^[5,6]。

一、诱导植物抗毒素

植物抗毒素也称植物抗生素,它们在植物体的防御反应中起重要作用。两个研究小组在不同的研究系统中分别发现:同型半乳糖醛(homogalacturonan)和其他富含半乳糖苷醛酸(galactosyluronic acid)的细胞壁寡糖片段是植物抗毒素的内生诱导剂^[6-10]。称其为内生诱导剂是因为它们并非细胞中的基本要素,而是必须在一定条件下从与细胞壁共价连接的状态中释放出来才能起作用^[6]。第一个研究小组发现,在大豆子叶细胞中,同型半乳糖醛有两种释放方式,其一是细胞壁部分酸解后,经离子交换和凝胶过滤,得到一种含癸半乳糖醛的寡糖素具有最高的活性^[7,8]。进一步分析表明它们含99%的半乳糖苷醛酸。对烟草、假挪威槭

(*Acer pseudoplatanus*)、小麦悬浮培养物的细胞壁及柑桔果胶用同样的方法处理,得到了相似的结果^[7]。第二个研究小组将细胞壁物质用2-(1→4)-内源多聚半乳糖醛酸裂解酶(α -(1-4)-endopolygalacturonic acid lyase,简称PGA-lyase)处理,得到富含半乳糖苷醛酸的植物抗毒素的诱导剂^[9]。他们从胡萝卜软腐文氏菌(*Erwinia carotovora*)中提取PEG裂解酶,然后分别处理大豆细胞壁、柑桔果胶及多聚果胶钠盐,都证明这类寡糖素的存在和作用。Davis等人详细研究了酶解多聚果胶钠盐所得寡糖素的结构特点。通过诱导大豆子叶抗毒素的积累,证实有两种寡糖素具有最高的诱导活性,其一是癸半乳糖苷醛酸,其二是壬半乳糖苷醛酸^[10]。

West的实验室则从另一种真菌(*Phizopus stoloniter*)中提取到一种多聚半乳糖醛酶,它能诱导其宿主蓖麻中蓖麻素(casbene,一种植物抗毒素)合成酶的积累^[11,12],用该酶裂解蓖麻细胞壁得到一种三半乳糖醛的寡糖素具有最高的活性^[13]。

Davis等还发现从真菌细胞壁中释放出来的寡糖素可以与植物细胞壁中释放出来的寡糖素协同作用^[14]。当两种不同的寡糖素同时存在时,它们所活化抗毒素合成过程的必需量远远低于它们分别起作用时的必需量。此外,Mieth等用从真菌中提取的纤维素酶和果胶酶分离大豆原生质体时,意外地诱导产生了植物抗毒素^[15]。不同来源诱导剂的诱导机理可能是相似的:改变受体植物细胞的有关代谢过程,诱导与植物抗毒素合成有关的mRNA和酶的合成^[16]。病原微生物导致其宿主释放寡糖素,进而诱导抗毒素这一过程,可能是植物的一种重

要而广泛的防御机制^[14]。

二、诱导产生蛋白酶抑制剂

有些植物的细胞壁果胶片段以另一种形式保护植物体以免受微生物和昆虫的侵害。Ryan等发现仅仅机械损伤就可诱导植物合成大量特异蛋白质,它们具有抑制微生物和昆虫蛋白酶的作用^[17,18]。显然这种蛋白酶抑制剂可以减轻外来的侵害。由伤害诱导蛋白酶抑制剂的合成和积累的信号取名为蛋白酶抑制剂诱导因子(proteinase inhibitor inducing factor, 简称PIIF)。从受伤的番茄和土豆子叶的细胞壁中抽提出的PIIF活性物质是一系列半乳糖苷醛酸的寡聚体,其中以6聚体活性最强。研究者由此推测PIIF属于寡糖素^[19]。有趣的是,PIIF同时也是豌豆荚中豌豆素(pisatin,一种植物抗毒素)的诱导剂^[20]。在一般情况下,豌豆素只能由昆虫体内或真菌细胞壁中的脱乙酰几丁质(chitosan)诱导。Walker-Simmons等比较了二者的诱导效率,发现它们极其相似。反过来,脱乙酰几丁质也是番茄子叶中蛋白酶抑制剂合成和积累的诱导因子。总之,虽然二者存在于远缘的生物类群,但其功能上的相似性说明它们可能具有进化上的渊源。此外,从假挪威槭细胞壁中得到一种高度纯化的半乳糖醛酸鼠李糖(I) (rhamnogalacturonan I, 简称RG-I)在番茄的幼苗中显示出PIIF活性^[21]。

RG-I是一种被广泛研究的具果胶性质的寡糖。鼠李糖苷和半乳糖醛酸构成其基本骨架,另有许多不同的侧链,包括寡聚半乳糖。它几乎存在于所有高等植物的细胞壁中,虽然其侧链的性质和数量不尽相同^[6,22]。Moore等^[23,24]用金胶体技术对它进行了细胞化学的定位和定量研究,发现它们仅存在于细胞壁中胶层和高尔基器及其分泌小泡中,推测可能是经高尔基体合成后转移到中胶层的。作者进一步推测,作为PIIF的分子源,RG-I位于中胶层是非常理想的,能以最小的代价来抵御外来的侵害。而在正常情况下,RG-I还可作为细胞纤维素

壁之间的“粘着剂”。

三、诱导细胞的致死反应

当植物受病菌感染时,感染部位的细胞超敏致死(hypersensitive cell death)是宿主的一种快速反应,也是一种重要的防御机制^[25]。它可减缓微生物的生长,为机体的其他反应争取时间。最近发现一种寡糖素参与了这一过程。从悬浮培养的假挪威槭和玉米细胞壁中均提取到了这种寡糖素^[6,26]。蛋白质合成能力是细胞生活力的指标,这一寡糖素能有效地抑制细胞的蛋白质合成直到细胞死亡。而质壁分离又可使本应死亡的相邻细胞幸免。假挪威槭细胞壁释放出来的寡糖素不仅能杀死假挪威槭细胞,也可杀死玉米细胞;同样,由玉米细胞壁释放的寡糖素也可杀死这两种植物的细胞。这种寡糖素是果胶性质的,但不是寡聚半乳糖苷醛酸,而是其他更为特异的片段。推测可能微生物体内的酶诱发了这种毒性果胶片段的释放。如一种水稻病源体稻梨孢(*Pyricularia oryzae*)能诱导水稻细胞壁释放一种能抑制水稻细胞本身蛋白质合成的寡糖素^[5,6]。此外,Hahne用果胶酶和半纤维素酶分离一粒小麦和烟草原生质体时发现,两种细胞的酶解上清液均含有致死性寡糖素^[27]。一粒小麦的细胞对这两种酶解上清液都非常敏感,而烟草仅对一粒小麦的酶解上清液敏感,对自身的酶解上清液不敏感。

四、对生长素类物质具拮抗作用

将悬浮培养的假挪威槭细胞用葡聚糖酶处理,从细胞壁的木葡聚糖(xyloglucan, 简称XG)中分离出一种寡糖素,能抑制2,4-D所诱导的豌豆上胚轴的生长^[28]。在浓度为 10^{-8} M时,抑制效果为70-90%,只占最大限度刺激生长时2,4-D浓度的1%。后来发现这种寡糖素是一种壬糖,同时存在的一种庚糖则无此效应^[29]。Branca用从天仙子中提取的一种多聚半乳糖苷醛酶处理多聚果胶钠盐,所得的寡糖素再处理豌豆的幼苗:当没有IAA存在时,检测不到它们的任何效应,也不干扰 GA_3 和激动

素的活性；而当存在 IAA 时，可抑制茎的生长，且抑制效果与寡糖素的浓度明显相关。这表明该寡糖素并非干扰细胞生长的一般代谢过程，并不直接影响豌豆茎节的伸长，而可能是 IAA 的竞争性抑制剂，影响与 IAA 作用有关的专一过程^[30]。这一结果与十多年前 McGinn 大学的 Maelachlan 等所得的结果极为符合。他们证明，用生长素处理豌豆上胚轴不仅能刺激其生长，而且使其细胞壁中两种纤维素酶的活性增加了约 50 倍^[31]。后来他们又发现，这些酶将木葡聚糖裂解成它的寡糖组分，主要是壬糖和庚糖片段^[32]。现在发现壬糖抑制了生长素诱发的生长。这样的激素活性反馈调节现象在动物系统中是熟知的，在植物中尚属首次发现。这一现象的生物学意义还有待研究，例如是否与顶端优势有关？

已知的五大类植物激素都是多效的，即对植物的发育有多种影响。如生长素刺激细胞伸长，促进顶芽生长而抑制侧芽生长，也可使植物体合成另一类激素乙烯，发展维管系统及形成侧根。其他四类激素也有类似复杂的功能。这一点与动物的某些激素相似，如来自下丘脑的激素刺激腺前叶合成和释放多种激素，它们又有各自专一的功能，即有一个激素连锁系列。Albersheim 等认为在植物中也可能存在这样一个系列：植物激素刺激酶的合成和活化，不同的酶释放出不同的寡糖素，由它们来行使更加专一的功能^[15,33]。

五、控制形态发生

细胞薄层培养是研究植物形态发生的重要实验系统，用它研究寡糖素对形态发生的影响也甚为理想。Tran Thaph Van 的实验室对这一课题进行了多年的研究，取得了一定的进展^[34,35]。她们从假挪威槭细胞悬浮培养物中分离出细胞壁物质，经碱水解或酶处理，得到多种寡糖素的混合物。在细胞薄层培养实验中，碱解所得的寡糖素使本应形成花的外植体形成花茎和营养芽；使本应形成营养芽的外植

体形成根。壁物质的酶解产物也使本应形成花的外植体形成营养芽。反之亦然。在这些实验中，寡糖素的活性浓度估计为 10^{-6} — 10^{-9} M，仅为 IAA 和 CK 的 1%—0.1%，且活性浓度范围较窄，过高或过低均会失去作用。这与它们在其他方面的功能特点一致^[23,30]。研究者强调指出：壁物质对培养基的 pH 没有影响。培养基中葡萄糖的浓度为 30 mg/ml，它们也不可能作为一种非特异性的碳水化合物或一种能源而起作用。

开花是一个复杂的过程。所谓的开花素至今未能鉴定出来。假挪威槭悬浮培养物细胞壁物质的酶解产物中有一种寡糖素能抑制浮萍开花，同时刺激营养体生长。这表明其效果并非寡糖素的毒性作用，而可能是营养生长和生殖生长的开关分子。这种分子也是果胶性质的，详细结果有待鉴定 (Darwill, 1985 引证)。

综上所述可以看出，植物细胞壁并不限于对原生质体的机械性保护，而是一种具有广泛生理活性的构造。它们通过“分泌”寡糖素来调节细胞的抗性、生长速度乃至分化。迄今为止，所有已鉴定的寡糖素均与细胞壁中纤维素的结构没有关系，而仅与果胶或半纤维素有关。细胞化学研究发现，果胶和半纤维素物质在整个细胞壁区域均有分布，它们共同构成细胞壁基质多糖 (cell wall-matrix polysaccharide)。RG-I 和 XG 分别是果胶和半纤维素的主要成分。它们不仅在合成部位与沉积方式上与纤维素不同，而且结构之复杂令人惊异。它们不象纤维素那样由一群化学上相同的糖分子以规则而单一的形式构成，而是多种糖分子经多种糖苷键连接而成。例如：两个葡萄糖分子之间就有 64 种不同的连接方式。3 种不同糖分子的连接方式可逾 1000 种！由于一种多糖可以合成百上千种单糖结合，所以可能的排列方式的数目是惊人的。现在无法猜测自然界的约束因素究竟能允许多少种可能的排列方式！蛋白质和其他非糖基团 (如甲基醚、甲基酯、乙基酯) 的参与更增添了细胞壁基质多糖结构的复杂性

[5] 现在的问题是自然界为什么要造就如此复杂的结构,使它们所含的信息远远超过仅仅使植物直立起来的信息量?一个可能的解释是:它们是寡糖素的仓库,能分泌各种专一性的寡糖信息分子来调控细胞的功能。因此对细胞壁结构和功能的深入研究,可能会有助于我们找到开启细胞分化这一奥秘的钥匙。

摘 要

植物细胞壁可分泌各种寡糖信息分子,称为寡糖素。它们对植物的抗性、生长速度、形态发生等方面有一定的调控作用。说明细胞壁是一个具有广泛生理活性的构造。

参 考 文 献

- [1] Ayers A. R. et al., 1976 a, *Pl. Physiol.* 57: 751—759.
- [2] Ayers A. R. et al., 1976 b, *Pl. Physiol.* 57: 760—765.
- [3] Hargreaves J. A., Bailey J. A., 1978, *Physiol. Plant Pathol.* 13: 89—100.
- [4] Hargreaves J. A., Selby C., 1978, *Phytochemistry* 17: 1099—1102.
- [5] Albersheim P., Darwill A. G., 1985, *Sci. Am.* 253: 58—64.
- [6] Darwill A. G. et al., 1985, *J. Cell Sci. Suppl.* 2: 203—217.
- [7] Hahn M. G. et al., 1981, *Pl. Physiol.* 68: 1161—1169.
- [8] Nothnagel A. E. et al., 1983, *Pl. Physiol.* 71: 916—926.
- [9] Kurosaki F., Nishi A., 1984, *Physiol. Plant Pathol.* 24: 169—176.
- [10] Davis K. P., 1986, *Pl. Physiol.* 80: 566—577.
- [11] Lee S.-C., West C. A., 1981 a, *Pl. Physiol.* 67: 633—639.
- [12] Lee S.-C., West C. A., 1981 b, *Pl. Physiol.* 67: 640—645.
- [13] Jin D. J., West C. A., 1984, *Pl. Physiol.* 74: 989—992.
- [14] Davis K. P. et al., 1986, *Plant Mol. Biol.*, 6: 23—32.
- [15] Mieth H., 1986, *Z. Naturforsch.* 41 c: 193—201.
- [16] Barley J. A., 1982, In *Phytoalexins* (eds. Barley J. A., Manstield J. W.) pp: 289—318, New York, Halstead Press.
- [17] Green T. R., Ryan C. A., 1972, *Science*, 175: 776—777.
- [18] Ryan C. A., 1978, *TYBS*, 7: 148—150.
- [19] Bishop P. D. et al., 1984, *J. Biol. Chem.* 259: 13172—13177.
- [20] Walker-Simmons M. et al., 1983, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 110: 194—199.
- [21] Ryan C. A. et al., 1981, *Pl. Physiol.* 68: 616—618.
- [22] McNeil M. et al., 1984, *Ann. Rev. Biochem.* 53: 623—663.
- [23] Moore P. J. et al., 1986, *Pl. Physiol.* 82: 787—794.
- [24] Moore P. J. et al., 1988, *Planta*, 174: 433—445.
- [25] Maclean D. J., 1974, *Nature (Lond)*, 249: 186—187.
- [26] Yamazaki N. et al., 1983, *Pl. Physiol.* 72: 864—869.
- [27] Hahne G., Lorz H., 1988, *J. Pl. Physiol.* 132: 345—350.
- [28] York W. S., 1984, *Pl. Physiol.* 75: 295—297.
- [29] McDougall G. J., Fry S. C., 1988, *Planta*, 175: 412—416.
- [30] Branca C. et al., 1988, *Physiol. Pl.* 72: 499—504.
- [31] Bryne H. et al., 1975, *J. Biol. Chem.* 250: 1012—1018.
- [32] Hayashi T. et al., 1984, *Pl. Physiol.* 75: 605—610.
- [33] Fry S. C., 1986, *Planta*, 169: 443—453.
- [34] Tran Thanh Van K., 1981, *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 32: 291—311.
- [35] Tran Thanh Van K. et al., 1985, *Nature (Lond)*, 314: 615—617.