

# 新型激活蛋白对多种作物种子发芽的影响

武广衍<sup>1</sup>, 邱德文<sup>1,2</sup>, 吴珍泉<sup>1</sup>, 武广繁<sup>3</sup>, 赵胜英<sup>4</sup>

(1. 福建农林大学 植保学院, 福建 福州 350000; 2. 中国农业科学研究院植物保护研究所, 北京 100094;  
3. 河海大学 土木学院, 江苏 南京 210000; 4. 济南仕邦农化有限公司, 山东 济南 250100)

**摘要:** 为探讨真菌源激活蛋白在促进种子发芽方面的效果, 研究了不同浓度激活蛋白处理对多种作物种子的影响。试验结果表明, 用 2~3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的新型激活蛋白浸泡棉种 6 h, 能显著提高种子的发芽势和发芽率。番茄和丝瓜种子分别用 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的蛋白浸种 6 h, 能显著提高种子的发芽率。黄瓜种子用 500 倍和 1 000 倍液都能显著提高种子的发芽率。

**关键词:** 激活蛋白; 种子; 发芽率

中图分类号: Q81 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)增刊-0021-04

## Effects of New Type Activator Protein on Seed Germination of Many Crops

WU Guang-yan<sup>1</sup>, QIU De-wen<sup>1,2</sup>, WU Zhen-quan<sup>1</sup>, WU Guang-fan<sup>3</sup>, ZHAO Sheng-ying<sup>4</sup>

(1. Fujian Forest and Agricultural University, Fuzhou 350000, China; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 3. Hehai University, Nanjing 210000, China; 4. Jinan Shibang Agrochemicals Co, Ltd, Jinan 250100, China)

**Abstract:** In order to approach the mechanism of enhancing plant growth by new fungal activator protein, the influence of activator protein with different concentration on physiological characteristics of many crops were studied. the testing results showed that soaking the seeds of cotton in 2~3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  new type activator protein for 6 h could significantly promote the germination vigor and germination rate of seed, The testing results showed that soaking the seeds of tomato and loofah in 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  new type activator protein for 6 h could significantly promote the germination rate of seed, The testing results showed that soaking the seeds of cucumber in 500, 1 000 new type activator protein could significantly promote the germination rate of seed.

**Key words:** Activator protein; Seed; Germination rate

植物与病原菌的相互作用包括两种类型: 一种是亲和性互作(Compatible interaction); 另一种为非亲和性互作(Incompatible interaction)。植物与病原菌之间的非亲和性互作常会引发植物体一系列的生理生化反应, 这些反应会进一步诱发植物的抗性。非亲和性互作的分子机制假设是: 植物体识别病原菌分子; 细胞传导途径的激活; 植物体发生一系列的生理生化反应以诱导抗性<sup>[1-3]</sup>。在植物与病原菌非亲和性互作过程中, 能够诱导引发防御反应的某种特定的微生物或植物分子即称为激发子<sup>[4-6]</sup>。

蛋白激发子(Elicitor)是一类能激发植物防御反

应基因表达与过敏性反应(Hypersensitive response, HR)的特殊信号蛋白活性物质。作为一种新型微生物蛋白农药蛋白类激发子具有一般农药所不具备的特点和优势, 一般生物农药是直接作用于防治对象, 而基于蛋白激发子的新型微生物蛋白农药则是通过诱导植物本身的抗病基因表达而达到抗病防虫促进生长的作用, 是一种解决农业生产病虫害问题的根本途径。

蛋白类激发子主要有: 过敏蛋白(Harpin)、隐地蛋白(Cryptogea)和激活蛋白(Activator)。过敏蛋白(Harpin)和隐地蛋白(Elicitin)具有诱导激活植物自

收稿日期: 2007-03-25

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)资助项目(2003CB114204)的拓展项目; 国家高技术研究发展计划(“863”计划)资助项目(2003AA241130)的拓展项目

作者简介: 武广衍(1981-), 男, 山东潍坊人, 硕士研究生, 主要从事植物分子学机理方面的研究

通讯作者: 邱德文(1959-), 男, 湖南长沙人, 博士, 研究员, 主要从事蛋白药物研究与开发。

身的生长和防御系统的功效, 并已得到普遍的认同<sup>[7-9]</sup>, 它们都是胞外的分泌蛋白, 其来源分别是原核生物与属于低等真菌的卵菌纲。

笔者所在实验室在国际上首次发现激活蛋白(Activator protein)。激活蛋白是从丝状真菌中分离得到的一种胞内可溶性蛋白, 是不同于 Harpin 和 Elicitin 的新型蛋白激发子, 拥有中国自主知识产权, 能诱导植物产生系统抗性, 促进植物生长, 改善作物品质, 可作为一种新型的广谱、高效、多功能的生物农药<sup>[10]</sup>。

激活蛋白从葡萄孢菌(*Botrytis*)、交链孢菌(*Alternaria*)、黄曲霉菌(*Asporgillus*)、稻瘟菌(*Pyricularia*)、青霉菌(*Penicillium*)、纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、木霉菌(*Trichoderma*)、镰刀菌(*Fusarium*)等多种真菌中筛选、分离、纯化出一种新型的蛋白质。分析表明, 其氨基酸和基因序列完全不同于过敏蛋白和隐地蛋白, 与蛋白质数据库中已知的蛋白序列同源性很低, 是一种全新的蛋白。该类蛋白能与植物表面蛋白受体互作, 诱导植物的信息传导, 启动植物体内一系列代谢反应, 激活植物自身生长系统、防卫系统, 从而使植物产生对病虫害的抗性, 促进生长, 提高作物产量。为了进一步明确植物激活蛋白对作物生长的影响及其机理, 本文研究了植物激活蛋白不同浓度和处理时间对多种种子发芽率的影响, 以期为植物激活蛋白的田间施用以及揭示其作用机理提供基础<sup>[11-14]</sup>。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试棉种、番茄和丝瓜种子、黄瓜种子(山东省种子公司); 3% 激活蛋白可湿性粉剂(中国农业科学

院农业环境与可持续发展研究所)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 方法设计 沙培发芽法, 即将棉种置于含水量为 50% ~ 60% 的发芽皿中, 每皿 50 粒, 重复 3 次, 处理 4 d 后测发芽势, 7 d 后测发芽率。棉种试验设计了 5 个处理浓度, 即 6, 3, 2, 1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和空白对照, 处理时间设计了 3 个处理, 即浸泡 4, 6 和 8 h。试验在人工气候室进行, 其温度控制在 28℃, 相对湿度控制在 70% ~ 75%。

番茄和丝瓜种子分别用 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的蛋白浸种 6 h, 以水为对照, 浸种后的种子用清水洗涤 2 次后播到营养钵中, 每处理 50 粒种子, 于 25℃ 培养, 分别于 7 和 9 d 检查出苗率, 各处理均重复 3 次。

将黄瓜种子放在处理液中浸泡 6 h 后, 取出后用滤纸将处理液滤干, 再将种子放在培养皿中培养, 每处理 10 个种子, 重复 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 激活蛋白对发芽及生长的影响

2.1.1 激活蛋白对棉花发芽势和发芽率的影响 从表 1 分析可知, 不同浓度处理对发芽势和发芽率的影响均达到极显著水平, 发芽势的 F 值为 4.353, 发芽率的 F 值为 13.398, 而不同时间处理只达到显著水平, 发芽势的 F 值为 5.462, 发芽率的 F 值为 6.411。从浸泡时间来分析, 以浸泡 6 h 的平均发芽势、发芽率最高, 其次是浸泡 8 h, 而浸泡 4 h 的平均发芽势、发芽率最低。从处理浓度来分析, 以 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的平均发芽势、发芽率最高。从浸泡时间+浓度来分析, 以浸泡 6 h+ 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的发芽势和发芽率最高, 分别达到 74.4% 和 83.33%, 分别比 CK 提高了 13.3 和 10.0 个百分点。

表 1 不同处理对棉花发芽势和发芽率的影响

Tab. 1 The effect of various treatments with activator protein on germination vigor and germination rate of cotton

处理浓度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) Treatment concentration	浸泡 4 h Soaking 4 h		浸泡 6 h Soaking 6 h		浸泡 8 h Soaking 8 h	
	发芽势	发芽率	发芽势	发芽率	发芽势	发芽率
	Germination vigor	Germination rate	Germination vigor	Germination rate	Germination vigor	Germination rate
CK	54.4	67.8	61.1	73.3	57.8	66.7
1.5	60.0	74.4	63.3	73.3	62.2	70.0
2	61.1	73.3	73.3	81.1	60.0	78.0
3	62.2	80.0	74.4	83.3	70.0	80.0
6	63.3	71.1	63.3	77.8	61.1	74.4
平均	60.2	73.32	67.08	77.76	62.22	73.82

注: 发芽势和发芽率分别在处理后 4 d 和 7 d 测定

Note: Germination vigor and germination rate mensurated after treatment 4 and 7 d

因此, 激活蛋白诱导后对棉花发芽势和发芽率均有促进作用, 尤以 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ + 浸泡 6 h 处理的效果最显著。

2.1.2 激活蛋白对丝瓜、番茄种子发芽的影响 播种 5 d 后植物激活蛋白处理种子的发芽率为 88%, 对照种子发芽率为 20%, 两者差异极显著; 播种后 7

d 处理种子的出苗率为 100%, 对照出苗率仅为 55. 33%, 两者差异极显著。说明植物激活蛋白能显著促进丝瓜种子的发芽。

7 d 时处理种子出苗率为 90%, 对照种子出苗

率为 38. 67%, 两者差异极显著; 9 d 处理种子的出苗率为 100%, 对照种子出苗率为 89. 33%, 两者差异极显著, 而且激活蛋白处理的幼苗比对照长得健壮, 详见表 2。

表 2 激活蛋白对丝瓜和番茄种子出苗率的影响

Tab. 2 Effect of activator protein on tomato and loofah germination

处理 Treatment	发芽率 germination rate/ %			
	丝瓜 5 d Loofah	丝瓜 7 d Loofah	番茄 7 d Tomato	番茄 9 d Tomato
激活蛋白/( $\mu\text{g/mL}$ ) Activator protein	88. 00 $\pm$ 7. 21 A	100. 00 $\pm$ 0. 00 A	90. 00 $\pm$ 3. 46 A	100. 00 $\pm$ 0. 00 A
对照 CK	20. 00 $\pm$ 3. 46 B	55. 33 $\pm$ 1. 15 B	38. 67 $\pm$ 6. 11 B	89. 33 $\pm$ 5. 03 B

2. 1. 3 激活蛋白对黄瓜发芽及其芽长增长率的影响 将黄瓜种子放在处理液中浸泡 6 h 后, 取出后用滤纸将处理液滤干, 再将种子放在培养皿中培养,

每处理 10 个种子, 3 次重复。T 值分析法检测表明, 3% 的可湿性粉剂处理黄瓜种子具有促进种子发芽根系生长的活性。详见表 3。

表 3 激活蛋白对黄瓜发芽及其芽长增长率的影响

Tab. 3 The effect of various treatments with activator protein on germination vigor and germination rate of cucumber

处理 Treatment	18 h 发芽数	24 h 发芽数	24 h 后平均 芽长/mm	总平均芽长 增加/mm 及 增长率%	40 h 后平均 芽长/mm	总平均芽长 增加/mm 及增长率/ %	T 值分析
蒸馏水 Distilled water	0	9	3. 28	3. 41	18. 81	19. 24	不显著
蒸馏水 Distilled water	1	9	3. 44	0	19. 66	0	
蒸馏水 Distilled water	0	10	3. 50		19. 24		
500 倍 500-fold	9	10	5. 65	5. 42	21. 91	22. 22	显著
500 倍 500-fold	10	10	5. 42	58. 9%	22. 56	15. 6%	
500 倍 500-fold	10	10	5. 20		22. 20		
1 000 倍 1 000-fold	10	10	5. 39	5. 32	21. 87	22. 04	显著
1 000 倍 1 000-fold	10	10	5. 43	56. 09%	22. 06	14. 6%	
1 000 倍 1 000-fold	9	10	5. 15		22. 18		

3 结论与讨论

激活蛋白处理棉种能促进棉种萌发和提高发芽率, 尤以浓度 3  $\mu\text{g/mL}$ + 浸泡 6 h 的处理效果比较显著, 表明激活蛋白处理棉种后, 可以提高种子的发芽率和根系发达程度, 发芽率高的种子, 相应根系较发达, 非常有利于增强幼苗的抗逆性。激活蛋白处理丝瓜和番茄种子的幼苗比对照长得健壮, 能显著提高作物的抗性。试验同时表明, 3% 的可湿性粉剂处理黄瓜种子具有促进种子发芽根系生长的活性。

赵利辉等<sup>[15]</sup>研究发现, 激活蛋白可诱导植物的防卫反应。适宜浓度的激活蛋白显著提高了大豆幼苗叶绿素含量及可溶性糖、可溶性蛋白的含量。激活蛋白可能首先通过提高叶绿素含量来增强植物的光合作用, 使植物合成更多的碳水化合物, 进而提高可溶性糖的含量。可溶性糖是一种渗透调节性物质, 在植物受胁迫后产生, 可调节植物细胞内的渗透压, 改善细胞质浓度, 降低质膜透性, 提高膜的完整

性, 以保证细胞正常生理活动的进行。同时, 因可溶性蛋白具有很强的持水力, 其含量的适当增加, 可有效缓解不良环境对植物的胁迫和伤害。据报道, Harpin 蛋白可以打通植物体内多条信号传导途径, 从而促进有利于植物正常生长的生物活性物质的合成, 并诱导植物抗病相关酶类的产生<sup>[16]</sup>。本课题组的前期研究表明, 激活蛋白的作用通常是几种因素相互协同的结果<sup>[17]</sup>。有关激活蛋白作用的分子机理需要进一步深入研究。

参考文献:

[1] Dixon R A, Lamb C J. Molecular communication in interaections between plants and microbial pathogens[J]. Annu Rev of Plant Physiol and Plant Mol Biol, 1990, 40: 347- 364.

[2] Ebel J, Scheel D. Elicitor recognition and signal transduction [C]// Boller T, Meins F. Plant Gene Research. Vienna: Springer Verlag, 1990.

[3] Lamb C J, Lawton M A, Dron M, et al. Singals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against micro-

- bial attack[ J] . Cell, 1989, 56: 215– 224.
- [ 4] Anderson A J. The biology of glycoproteins elicitors[ C] // Kossuge T, Nester E W. Plant-Microbe Interactions III. New York: McGraw Hill, 1989: 87– 130.
- [ 5] Darvill A G, Albersheim P. Phytoalexins and their elicitors A defense against microbial infection in plants[ J] . Annu Rev of Plant Physiol, 1984, 35: 243– 293.
- [ 6] Templeton M D, Lamb C J. Elicitors and defense gene activation[ J] . Plant Cell Environ, 1988, 11: 395– 401.
- [ 7] Dwen Qiu, Clayton K, Wei Z M. Effects of Messenger on plant growth & disease resistance in cucumber and strawberry [ J] . Phytopathology, 2002, 92( 6) : 67– 69.
- [ 8] Kamoun S, Young, Mglasco C B, *et al* . Extracellular protein elicitors from Phytophthora : host-specificity and induction of resistance to bacterial and fungal phytopathogens [ J] . Mol Plant Microbe Interact, 1993, 6: 15– 25.
- [ 9] Milat M L, Ricci P, Blein J P, *et al* . Capsidiol and ethylene production by tobacco cells in response to cryptogin[ J] . Phytochemistry, 1991, 30: 2171– 2173.
- [ 10] 邱德文. 植物用多功能真菌蛋白质: 中国, 0112866. 0 [ P] 2002– 04– 17
- [ 11] 邱德文. 微生物蛋白农药研究进展[ J] . 中国生物防治, 2004, 20( 2) : 91– 94.
- [ 12] Wei Z M, Laby R J, Zumoff C H, *et al* . Harpin elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora* [ J] . Science, 1992, 257( 5066) : 85– 88.
- [ 13] Ricci P. Structure and activity of proteins from pathogenic fungi phytophthora eliciting necrosis and acquired resistance in tobacco[ J] . Eur J Biochem, 1989, 183: 555– 563.
- [ 14] 张正光, 王源超, 郑小波. 一种新的 90 kD 胞外蛋白激酶诱导烟草系统获得抗性研究[ J] . 植物病理学报, 2002, 32( 4) : 338– 346.
- [ 15] 赵利辉, 邱德文, 刘 铮, 等. 植物激活蛋白对水稻抗性相关基因转录水平的影响[ J] . 中国农业科学, 2005, 38( 7) : 1358– 1363.
- [ 16] 李 丽, 邱德文, 刘 铮, 等. 植物激活蛋白对番茄抗病性的诱导作用[ J] . 中国生物防治, 2005, 21( 4) : 265– 268.
- [ 17] 段同钊. 新型植物生化激活剂-康壮素[ J] . 蔬菜, 2003, 12: 40– 41.