

Harpin 蛋白对冬枣叶片生长和果实发育的影响

李 明¹, 张柱岐¹, 李主江²

(1. 滨州职业学院 生物工程学院, 滨州市农业生物重点实验室 山东 滨州 256603; 2. 山东滨州冬枣研究院, 山东 滨州 256600)

摘 要: 对喷施不同浓度 HarpinXoo 蛋白的冬枣树, 进行了叶片生长和果实发育情况的调查与分析。结果表明: 不同浓度的 HarpinXoo 蛋白均对冬枣叶片的叶面积、叶重、叶厚度和果实膨大和增重具有明显的促进作用, 其中以 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或以上浓度的 HarpinXoo 蛋白促进效果最为显著, 继续提高浓度, 则增效不明显。

关键词: HarpinXoo 蛋白; 冬枣; 生长发育

中图分类号: S 665.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)24-0056-03

冬枣 (*Zizyphus jujuba* Mill. Cv. Dongzao) 以其果形美观, 味道鲜美, 富含 19 种人体所需的氨基酸和多种维生素, 同时含有多种微量元素和较多的药用成分, 具有很高的食疗价值和保健功效, 被誉为“活维生素丸”, 有着广阔的市场前景。

近年来, 由于果农片面追求产量, 大量使用化肥, 多次施用激素, 滥用农药, 严重影响了冬枣品质和食用安全。随着人们生活水平和健康意识的提高, 冬枣安全优质生产的重要性日益凸显^[1-3]。

Harpin 是一类信号分子, 是革兰氏阴性植物病原细菌产生的一类蛋白质, 可以激发植物产生抗病、抗虫、抗干旱、抗寒和促生长等多种有益表型。具有无毒、无公害、高温不变性、便于施用和对环境友好等优点, 曾荣获

美国环境保护委员会颁发的总统绿色化学挑战奖^[4,5]。为服务冬枣绿色生产, 拓展市场需求, 提高经济效益, 该研究就 HarpinXoo 蛋白对冬枣生长和发育的影响进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用的冬枣树为山东滨州冬枣研究院冬枣研究基地 6 a 生的嫁接苗, 目测树势基本一致。HarpinXoo 蛋白为南京农业大学研制并提供的有效成分为 1% 的可溶性微粒剂。

1.2 试验方法

1.2.1 HarpinXoo 蛋白处理方法 从 2006 年 4 月下旬到 10 月上旬, 在冬枣不同生长发育期 (萌芽期、开花期、坐果期、果实膨大期、果实收获前期) 对冬枣树进行叶面喷施处理。设置 10、20、30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (纯 HarpinXoo 蛋白含量) 4 个处理浓度, 分别命名为 E1、E2、E3、CK (对照喷施清水)。采用随机区组排列, 每处理 10 棵树, 3 次重复, 设置隔离行和保护行。

1.2.2 叶片生长情况调查 于叶面喷施处理后的 7 月

第一作者简介: 李明 (1970-), 男, 山东东营人, 博士, 副教授, 现主要从事植物生物技术和植物病害防治研究工作。E-mail: sdbzlm@163.com。

基金项目: 滨州职业学院博士基金资助项目 (bzysjj0601); 滨州市农业生物重点实验室基金资助项目。

收稿日期: 2010-10-15

Abstract: Took Yali branches as materials, treated with different concentration of NaCl, studied the changes of polyamine in leaves of Yali under salt stress. The results showed that the ADC activities rised along with the NaCl treatment concentration rise in leaves of Yali pear. When the NaCl concentration was too high ($> 150 \text{ mmol/L}$) the ADC activity no longer rises. The ODC activities were lower than ADC activities, and there were not any significant changes after the NaCl treatment. The TGase activities increased along with the NaCl treatment concentration rise, and decreased when the NaCl concentration was excessively high. PAO activities were activated after NaCl treatment, and decreased when the NaCl concentration was excessively high. Along with the NaCl treatment concentration rise, the free Put content and the Spd content rised, and decreased when the NaCl concentration was excessively high. There were no significant changes in the Spm content after the NaCl treatment. The band polyamines content rised along with the NaCl treatment concentration rise, and decreased when the NaCl concentration was excessively high.

Key words: NaCl stress; polyamine; ADC; ODC; PAO

中旬和下旬, 参照张柱岐^[6]的方法调查冬枣树的叶面积、叶片重量和单叶厚度。

1.2.3 果实发育分析 10月上旬, 对各处理的冬枣树按东西南北中5个方位进行采摘, 每个方位采20个果实, 分别用游标卡尺进行纵径、横径测量, 分析天平称重测定单果重, 重复5次, 取平均值。

1.2.4 数据处理 对试验的主要指标冬枣果实膨大情况利用 Spss 分析软件对数据进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 HarpinXoo 蛋白对冬枣叶片生长的影响

2.1.1 HarpinXoo 蛋白对冬枣叶片面积的影响 于叶面喷施处理后的7月中旬, 每棵冬枣树皆随机取树体中部叶位同一枣吊的中部3片叶, 利用拓叶数小方格法计算冬枣的叶面积。结果得出, HarpinXoo 蛋白处理冬枣后, E1、E2、E3 叶片平均叶面积依次为 14.27、15.76、15.73 cm², 而对照 CK 的叶片平均面积为 12.78 cm²。表明不同浓度的 HarpinXoo 蛋白处理较对照冬枣叶片面积大小均有不同程度的增大作用, 浓度达到20 μg/mL 时, 对冬枣叶片面积增大作用最显著, 继续提高喷施浓度, 叶片面积则相对稳定, 不再有继续增大趋势。

2.1.2 HarpinXoo 蛋白对冬枣叶片重量和厚度影响 于叶面喷施处理后的7月下旬, 在各小区分别调查该区域内所有冬枣树的叶片重量, 每棵冬枣树皆随机取树体中部叶位同一枣吊的中部3片叶, 利用分析天平称30片叶重, 取其平均值(单叶重量), 利用游标卡尺(以卡紧不勒进叶片为准)测量30片叶片总厚度, 取其平均值(单叶厚度)。由图1、2可以看出, E1、E2、E3 较对照 CK 冬枣叶片重量和厚度均有增重作用, 其中 E2 (HarpinXoo 蛋白的浓度 20 μg/mL)对冬枣叶片增重和增厚最明显, 继续提高喷施浓度, 叶片增重和增厚趋势不明显。

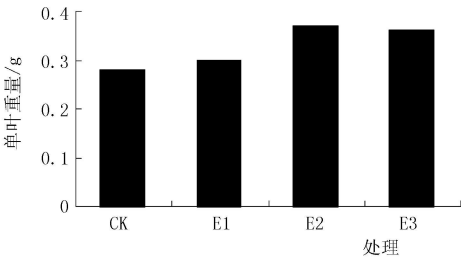


图1 HarpinXoo 蛋白对冬枣叶片重量的影响

2.2 HarpinXoo 蛋白对冬枣果实发育的影响

2.2.1 HarpinXoo 蛋白对冬枣果实膨大的影响 由表1可以看出, E1、E2、E3 较对照 CK 冬枣果实膨大均有不同程度的增大作用, 差异显著, 当浓度达到 20 μg/mL 时对冬枣果实纵径和横径膨大增幅最高, 继续提高喷施浓度, 增幅不明显。

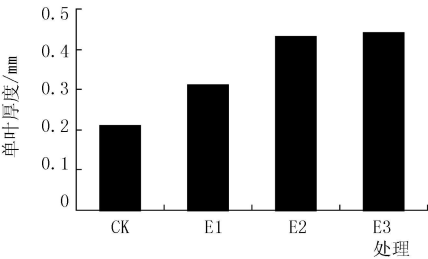


图2 HarpinXoo 蛋白对冬枣叶片厚度的影响

表1 HarpinXoo 蛋白对冬枣果实横纵径膨大的影响

处理	CK	E1	E2	E3
果实平均横径/ cm	1.802 a	2.107 b	2.246 c	2.251 c
果实平均纵径/ cm	1.947 a	2.162 b	2.292 c	2.299 c

注: 表中数据采用 LSD 方差分析方法, 不含相同字母表示差异显著, 小写字母表示不同处理间的差异显著性(P<0.05), 下同。

2.2.2 HarpinXoo 蛋白对冬枣果实重量影响 10月上旬, 对各处理的冬枣树按东西南北中5个方位进行采摘, 每个方位采20个果实, 用分析天平称重并测定单果重。结果得出, 不同浓度 HarpinXoo 蛋白处理冬枣后, E1、E2、E3 冬枣单果重依次为 17.16、20.27、20.12 g, 而对照单果重为 14.33 g。不同浓度的 HarpinXoo 蛋白处理较对照冬枣果实均有不同程度的增重作用, 20 μg/mL 或以上的浓度对冬枣果实增重最明显, 但 E3 (30 μg/mL) 和 E2 (20 μg/mL) 无差异, 表明 HarpinXoo 蛋白处理浓度达到 20 μg/mL 后, 再提高处理浓度, 冬枣果实重量不会显著增加。

3 讨论

Harpins 是革兰氏阴性植物病原细菌受 hrp 基因 (Hypersensitive reaction and pathogenicity gene 即过敏反应和致病性基因) 调节并通过Ⅱ型泌出通道分泌的一类蛋白质。Wei 等首先从梨火疫病菌 *Erwinia amylovora* 中分离到一种过敏反应激发蛋白质 HrpN (HrpNEa), 并使用了 Harpin 一词^[7]。HarpinXoo 蛋白是由水稻白叶枯病原菌水稻黄单胞 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* 分泌产生的一类蛋白^[8]。该试验首次将 HarpinXoo 蛋白用于对冬枣生长影响的研究, 结果表明通过叶面喷施 HarpinXoo 蛋白, 对冬枣叶片生长和果实发育均有明显的促进作用, 其中以 20 μg/mL 或以上的浓度喷施效果最为明显, 该结果与前人研究 Harpin 类蛋白对其它植物生长发育的影响结果一致^[9-11]。

当外源向植物施用 Harpin 蛋白时, 如喷洒或涂抹, 植物一般不产生明显可见的过敏反应 (HR, hypersensitive response), 但可产生显微 HR (micro-HR), 诱导植物产生系统获得性抗性 (SAR, Systemic acquired resistance)^[3]。Harpin 蛋白诱导植物产生多种有益表型是由于不同信号传导通路被激活的结果, 这些信号通路分别由水杨酸 (Salicylic acid)、茉莉酸 (Jasmonic acid) 和乙烯

(Ethylen)等介导,其中 Harpin 通过乙烯介导的信号通路促进植物生长发育效应。乙烯是一种植物激素,对植物的生长发育起着十分重要的调节作用。乙烯水平在 Harpin 诱导促生长过程中显著升高,同时许多与乙烯信号传导相关的基因也都有一定程度的表达,特别是通过 EIN5 基因调控植物生长发育效应^[12]。

该研究表明,20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或以上浓度的 HarpinXoo 蛋白对冬枣生长具有显著的促进作用,继续提高浓度,则增效不明显,这可能是用 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 HarpinXoo 蛋白喷施冬枣叶片时,其含有的 HarpinXoo 蛋白分子即已与植物叶片的全部受体完全结合,再增加的 HarpinXoo 蛋白分子已无受体可结合,但 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度是否过量,最佳施用浓度是多少,尚需进一步研究。HarpinXoo 蛋白的施用量少于 HarpinEa 蛋白的施用量 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[13-15],分析可能原因:一是 HarpinXoo 蛋白的分子量为 15.6 Kda,比 HarpinEa 蛋白的分子量(44 Kda)小,相同浓度下含有的 HarpinXoo 蛋白分子更多;二是由于 HarpinXoo 蛋白分子较小,比较易于附着植物叶片和与植物受体结合。

HarpinXoo 蛋白质具有耐高温(煮沸 10 min,蛋白不变性,仍具有生物活性),酸碱稳定,对人畜无毒,使用后迅速降解,不污染环境等特性,且用量极低,施用方便,生产成本低,因此, HarpinXoo 蛋白在冬枣绿色生产方面具有广阔的应用和推广前景。有关 HarpinXoo 蛋白对冬枣抗病性、果实品质改善和保鲜效果等方面的研

究正在进行中。

参考文献

- [1] 马庆华,续九如,王贵禧,等.冬枣百菌清、氯氰菊酯和氰戊菊酯残留的研究[J].中国农学通报,2009,25(15):51-54.
- [2] 王美健,边金田,穆香明,等.冬枣病虫害无公害控制措施[J].农业科技通讯,2003(3):32-33.
- [3] 胡军,刘宏霞,梁金祥.ISO22000:2005 在冬枣醋饮料生产企业的应用[J].饮料工业,2008,11(9):38-41.
- [4] Wei Z M, Qiu D, Kropp M J, et al. Harpin, an HR elicitor, activates both defence and growth systems in many commercial important crops[J]. Phytopathology, 1998, 88: 96.
- [5] 李平,陆徐忠,邵敏,等.水稻黄单胞细菌 Harpin 蛋白的遗传多样性及其诱导烟草过敏反应和抗病性功能[J].中国科学(C 辑生命科学),2004,34(2):136-143.
- [6] 张柱岐.甲壳素衍生物叶面肥对冬枣叶片生长及果实膨大状况的影响[J].安徽农业科学,2009,37(17):13393-13394,13397.
- [7] Wei Z M, Beer S. Harpin from *Erwinia amylovora* induces plant resistance[J]. Acta Hort, 1996, 411: 223-225.
- [8] 闻伟刚,王金生.水稻白叶枯病菌 Harpin 基因的克隆与表达[J].植物病理学报,2001,31(4):295-300.
- [9] 柴一秋,刘又高,王根钊,等. HarpinEa 蛋白制剂对葡萄、杨梅产量及品质的影响[J].现代农药,2004,3(1):32-35.
- [10] 傅华欣,陆云梅,毛华方,等.康壮素在塑料大棚草莓上的应用效果[J].安徽农业科学,1999,27(6):596.
- [11] 高正良,马国胜,周本国,等.康壮素对烟叶产质量及综合抗病虫能力的影响[J].烟草科技,1999(5):43-44.
- [12] 包志龙.蛋白质激酶 Harpins 诱导的植物信号通路及其交叉对话[D].南京:南京农业大学,2005.

Effects of HarpinXoo Protein on the Leaf Growth and Fruit Development of *Zizyphus jujuba*

LI Ming¹, ZHANG Zhu-qi¹, LI Zhu-jiang²

(1. Biological Engineering College of Binzhou Polytechnic Binzhou Key Laboratory of Agricultural and Biological Engineering, Binzhou, Shandong 256603; 2. Shandong Binzhou Winter Jujube Institute, Binzhou, Shandong 256600)

Abstract: To leaf growth and fruit development of *Zizyphus jujuba* were investigated and analyzed, after sprayed with HarpinXoo protein of different concentrations. The results showed that HarpinXoo protein of different concentrations to the leaf area, leaf weight, leaf thickness and fruit expand and weight had obvious promoting effect. The promoting effect of HarpinXoo protein at 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ or more level was the most significantly, to continue to improve the concentration, the promoting effect was not obvious.

Key words: HarpinXoo protein; *Zizyphus jujuba*; growth and development