

溴氰菊酯对黄瓜光合色素、叶绿素酶和氨基乙酰丙酸合酶活性的影响

郑东¹ 黄卓烈²

(1 华南农业大学园艺系; 2 华南农业大学生物技术学院, 广州, 510642)

摘要 200mg[°] L⁻¹ 的溴氰菊酯喷施三叶期的黄瓜幼苗 10d 后, 体内叶绿素总量下降 44.62%; 叶绿素 a/b 比值从 2.736 下降到 2.540, 类胡萝卜素含量则比对照升高 93.42%。用 50 到 500mg[°] L⁻¹ 的溴氰菊酯喷施黄瓜 4d 后, 叶绿素总量比对照下降 7.08%~30.54%; 叶绿素 a 含量比对照下降 9.90%~33.48%; 叶绿素 b 含量比对照下降 0%~22.39%。300mg[°] L⁻¹ 溴氰菊酯使类胡萝卜素含量增加 83.35%。用 50~500mg[°] L⁻¹ 的溴氰菊酯喷施幼苗时, 体内叶绿素酶活性升高 12.31%~38.25%; δ -氨基乙酰丙酸合酶活性则下降 2.70%~22.85%。该文讨论了溴氰菊酯影响黄瓜叶绿素含量的机理。

关键词 溴氰菊酯; 黄瓜; 叶绿素; 类胡萝卜素; 叶绿素酶; δ -氨基乙酰丙酸合酶
中图分类号 Q946

溴氰菊酯是一种拟除虫菊酯类农药。在农业生产上广泛使用来防治各种害虫 (Pophaly et al, 1987)。据研究, 这种农药在蔬菜上使用后 7~8d 内 90% 被降解 (张大弟等, 1990), 因而被认为是一种残毒性较低的农药。近年来在世界各地使用较为普遍 (Hassan et al, 1987)。有关这个农药的毒杀机理, 其在昆虫体内的分解转变, 以及对昆虫代谢的影响等都作了较多的研究 (Vernon et al, 1991; Wawrzyniak, 1988)。然而, 对于其使用后, 对农作物的生理生化及生长发育的影响却研究甚少, 尤其是此农药的大量使用对作物的光合作用这个重要代谢过程的影响还未见报道。本试验研究了溴氰菊酯对黄瓜幼苗叶片光合色素及其代谢有关的两个重要酶的影响, 为合理使用溴氰菊酯提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

本试验采用黄瓜 (*Cucumis sativus*) 的幼苗作为研究材料。幼苗盆栽, 自然光照。当幼苗长出 3 片真叶后, 即用各种浓度的溴氰菊酯喷施幼苗, 喷至叶片正反面全湿为度。对照组用清水同样处理。以后在规定的时间内, 每种处理从 20 株瓜苗上采集第 1 片真叶洗净、晾干、剪碎, 充分拌匀后再各称取 5g, 测定各项指标。

1.2 测定方法

叶绿素 a/b 和叶绿素总量的测定按 Arnon (1949) 的方法。类胡萝卜素含量的测定按

Moran等 (1990)所介绍的方法,其含量用“ $\text{U}^{\circ} \text{g}^{-1}$ ”表示,其意义是 $A_{480} \text{U}^{\circ} \text{g}^{-1}$.叶绿素酶活性的测定采用 Holden (1961) 所述的方法进行,活性以每小时内每克鲜叶提取物催化叶绿素生成去植基叶绿素的量表示. 氨基乙酰丙酸 (ALA) 合酶活性采用 Hamp 等 (1975) 的方法进行测定,活性以每小时内每克鲜叶提取物催化生成 δ 氨基乙酰丙酸的量表示.

2 结果与分析

2.1 溴氰菊酯处理不同时间对叶绿素的影响

用 $200\text{mg}^{\circ} \text{L}^{-1}$ 溴氰菊酯喷施黄瓜幼苗后,叶片内叶绿素总量相继下降,10d时,比对照下降了 44.626% (表 1). 相应地,叶绿素 a和叶绿素 b的含量也相继下降,10d时,两者的含量只有处理当天的一半左右. 在处理后 6d内,叶绿素 a/b比由 2.736下降到 2.112说明这段时间内叶绿素 a的下降速度比叶绿素 b快. 在 6d后, a/b比值稍有回升,又说明这段时间内叶绿素 b的下降速度加快 (表 1).

表 1 $200\text{mg}^{\circ} \text{L}^{-1}$ 的溴氰菊酯处理对黄瓜幼苗叶片叶绿素含量的影响⁽¹⁾

测 定 项 目	处 理 时 间 /d						
	0	1	2	4	6	8	10
叶绿素总量 $/\text{mg}^{\circ} \text{g}^{-1}$	1.502	1.381	1.365	1.321	1.223	0.928	0.747
处理 对照							
处理比对照下降 / (%)	1.502	1.499	1.490	1.481	1.455	1.412	1.349
叶绿素 a含量 $/\text{mg}^{\circ} \text{g}^{-1}$		7.872	8.389	10.804	15.945	34.278	44.626
叶绿素 b含量 $/\text{mg}^{\circ} \text{g}^{-1}$	1.100	0.980	0.951	0.913	0.830	0.614	0.536
a/b比	2.736	2.444	2.297	2.238	2.112	2.233	2.540

(1) 叶绿素含量为鲜重的含量

2.2 不同浓度的溴氰菊酯对叶绿素含量的影响

用不同浓度的溴氰菊酯喷施黄瓜幼苗 4d后,体内叶绿素含量均受到明显的影响. 在试验浓度范围内,随着浓度的增大,叶绿素总量、叶绿素 a和 b含量相应下降.浓度在 $500\text{mL}^{-1} \text{g}^{\circ}$ 时,叶绿素总量、叶绿素 a和 b分别比对照下降 30.546%、33.486%和 22.392%. 叶绿素 a/b比值也受到明显的影响. 在 50~ $300\text{mg}^{\circ} \text{L}^{-1}$ 范围内,比值由对照的 2.774下降到 2.232 (表 2).

表 2 不同浓度的溴氰菊酯对黄瓜叶片叶绿素含量的影响⁽¹⁾

测 定 项 目	溴 氰 菊 酯 浓 度 $/\text{mg}^{\circ} \text{L}^{-1}$						
	0	50	100	200	300	400	500
叶绿素总量 含量 $/\text{mg}^{\circ} \text{g}^{-1}$	1.483	1.378	1.335	1.321	1.086	1.051	1.030
比对照升降 / (%)		- 7.080	- 9.980	- 10.294	- 26.770	- 29.130	- 30.546
叶绿素 a 含量 $/\text{mg}^{\circ} \text{g}^{-1}$	1.090	0.982	0.942	0.915	0.750	0.731	0.725
比对照升降 / (%)		- 9.908	- 13.578	- 16.055	- 31.193	- 32.936	- 33.486
叶绿素 b 含量 $/\text{mg}^{\circ} \text{g}^{-1}$	0.393	0.396	0.393	0.406	0.336	0.320	0.305
比对照升降 / (%)		+ 0.763	0.000	+ 3.308	- 14.504	- 18.575	- 22.392
a/b比	2.774	2.479	2.397	2.254	2.232	2.284	2.377

(1) 叶绿素含量为鲜重的含量

相关性分析结果 (表 3) 显示, 叶绿素总量、叶绿素 a 和 b 含量与所使用的溴氰菊酯浓度成负相关. 其相关系数均达到极显著水平. 此外, 由决定系数可知, 叶绿素总量、叶绿素 a 和 b 的含量下降分别有 92. 21%、92. 74% 和 80. 83% 的可靠性是由不同浓度的溴氰菊酯所引起, 其余原因所造成的降低分别最多只占 7. 79%、7. 26% 和 19. 17% 的可能性.

表 3 不同浓度的溴氰菊酯对黄瓜叶片叶绿素含量影响的相关系数及显著性测验

叶绿素种类	相关系数	决定系数	Sr	t	t _{0.05}	t _{0.01}
叶绿素总量	- 0. 9603	0. 9221	0. 1248	7. 693* *	2. 447	3. 707
叶绿素 a	- 0. 9630	0. 9274	0. 1205	7. 992* *	2. 447	3. 707
叶绿素 b	- 0. 8991	0. 8083	0. 1958	4. 592* *	2. 447	3. 707

2.3 溴氰菊酯对黄瓜类胡萝卜素含量的影响

当用 50~ 500mg° L⁻¹ 的溴氰菊酯喷施黄瓜幼苗 4d 后, 体内类胡萝卜素含量受到明显的影响. 在 300mg° L⁻¹ 浓度以内, 随着浓度增大, 体内类胡萝卜素比对照相继升高. 浓度为 400mg° L⁻¹ 时, 含量升高的幅度下降. 浓度升至 500mg° L⁻¹ 时, 类胡萝卜素含量反而比对照减少 37. 76% (图 1).

当用 300mg° L⁻¹ 的溴氰菊酯喷施黄瓜幼苗后, 在 10d 内, 叶片类胡萝卜素相继比对照升高, 最高时比对照升高 93. 422% (图 2). 可见, 其升幅是较大的.

2.4 溴氰菊酯对黄瓜叶片叶绿素酶活性的影响

当用 50~ 500mg° L⁻¹ 的溴氰菊酯处理黄瓜叶片 4d 后, 叶绿素酶活性发生了明显变化 (图 3). 在所试验的范围内, 随着溴氰菊酯浓度升高, 叶绿素酶活性也相应升高. 溴氰菊酯浓度在 500mg. L⁻¹ 时, 叶绿素酶活性比对照上升 38. 25%. 相关分析结果表明, 在本试验条件下, 叶绿素酶活性的变化与溴氰菊酯的浓度呈正相关, 正相关系数达到极显著水平.

2.5 溴氰菊酯 δ氨基乙酰丙酸合酶活性的影响

当用溴氰菊酯处理黄瓜幼苗 4d 后, δ氨基乙酰丙酸 (ALA) 合酶活性受到明显的抑制.

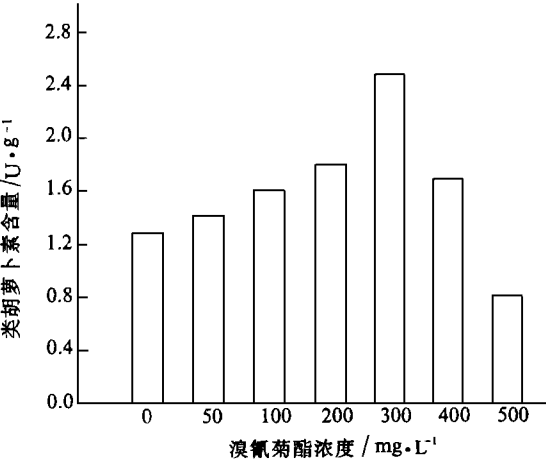


图 1 各种浓度的溴氰菊酯对黄瓜叶片类胡萝卜素含量的影响

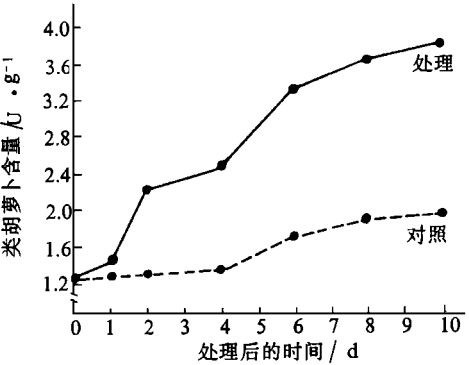


图 2 300mg° L⁻¹ 的溴氰菊酯处理后不同时间黄瓜叶片类胡萝卜素含量的变化

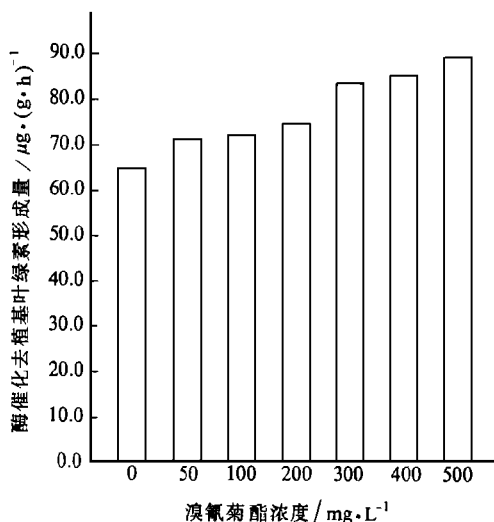


图 3 不同浓度的溴氰菊酯对黄瓜叶绿素酶活性的影响

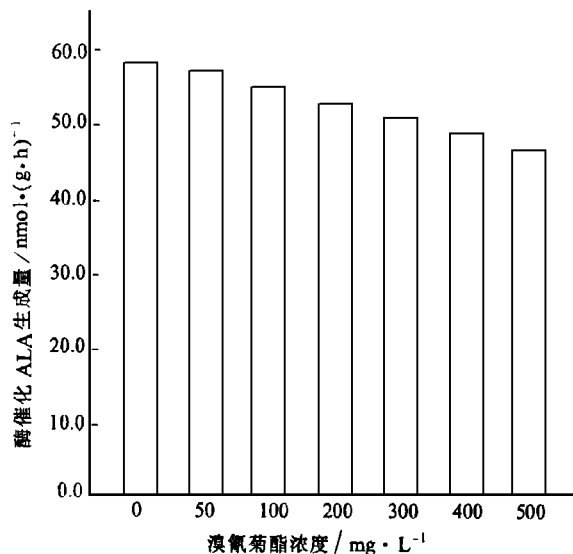


图 4 不同浓度的溴氰菊酯对黄瓜 ALA 合酶活性的影响

在使用的范围内,随着浓度的升高,酶活性有下降的趋势(图 4)。当溴氰菊酯浓度为 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,ALA 合酶活性比对照下降了 22.85%。相关分析表明,ALA 合酶活性变化与溴氰菊酯浓度也呈负相关,其相关系数极显著。

3 讨论

叶绿素是光合作用色素。在体内,叶绿素不仅可以大量吸收光能,而且可以构成光系统 I 和光系统 II 反应中心 (Mathis et al, 1989),通过激发形式将光子能量转变成化学能 (杨善元, 1989; Agostiano et al, 1990),因而是光合作用中最重要的色素。类胡萝卜素是天线色素,它可以把自身吸收的光能传递给叶绿素进行光化学反应 (Ghanotakis et al, 1989; Newell et al, 1991),而且还可以减轻叶绿素受光能荧光作用的致死效应,对叶绿素分子、类囊体和叶绿体起到保护作用 (Damm et al, 1986; Gruszecki et al, 1991)。因此类胡萝卜素在叶绿体中同样起到相当重要的作用。

叶绿素的生物合成中一个重要的酶是 δ -氨基乙酰丙酸合酶。该酶催化甘氨酸和琥珀酰辅酶 A 缩合成 δ -氨基乙酰丙酸 (Biswas et al, 1986; Hampp et al, 1975)。 δ -氨基乙酰丙酸是叶绿素 a 和叶绿素 b 的合成前体。此酶活性高低可作为体内合成叶绿素强度的量度 (Hampp et al, 1975)。叶绿素酶是催化叶绿素 a 和叶绿素 b 水解的酶 (Klein et al, 1961)。因此,叶绿素酶活性的高低在某种程度上反映了叶绿素的分解强度。

本试验的结果揭示,杀虫剂溴氰菊酯能使黄瓜叶片内的叶绿素含量大大降低,而在一定程度上增加了体内的类胡萝卜素含量。虽然对溴氰菊酯破坏叶绿素的详细机理尚不清楚,但从本试验结果可看出两种作用方式:一是溴氰菊酯增加了叶绿素酶的活性,进而促进了体内叶绿素 a 和叶绿素 b 水解,从而使叶绿素含量下降。另一方面是溴氰菊酯抑制了 δ -氨基

基乙酸丙酸合酶的活性, 使叶绿素的生物合成受到极大的阻碍. 这两种方式共同作用的结果, 就使体内叶绿素含量明显下降.

至于溴氰菊酯以什么机理促进叶绿素酶活性和抑制 ALA 合酶活性, 又以何种机理影响体内类胡萝卜素的含量, 有待于进一步探讨.

参 考 文 献

- 张大弟, 张晓红, 徐正泰, 等. 1990. 四种拟除虫菊酯在蔬菜的残留降解及其起始残留浓度. 中国环境科学, 10 (4): 277~ 284
- 杨善元. 1989. 叶绿素 b 聚集体和它的能化态的性质. 植物生理学报, 15 (1): 83~ 87
- Agostiano A, Caselli M, Dlla M M, et al. 1990. Polarographic and wavelength- selected fluorescence excitation studies of chlorophyll a aggregation in water containing trace amounts of acetone. Bioelectrochem Bioenerg, 23 (3): 301~ 310
- Arnon D I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 24 (1): 1~ 15
- Biswas A K, Mukherji S. 1986. Regulation of chloroplast pigments synthesis in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings by penicillin. Indian J Plant Physiol, 29 (1): 34~ 45.
- Damm I, Knoetzel J. 1986. On the protective role of carotenoids in the PS I reaction center and LHC I complexes of the thylakoid membrane. In: Biggins J, ed. Prog Photosynth Res, Proc Int Congr Photosynth, 7th. Nijhoff Dordrecht Neth, 2 351~ 354
- Chanotakis D F, De Paula J C, Demetriou D M, et al. 1989. Isolation and characterization of the 47 kDa protein and the D1- D2- cytochrome b- 559 complex. Biochim Biophys Acta, 974 (1): 44~ 53
- Gruszecki W I, Veeranjanyulu K, Leblanc R M. 1991. Qualitative changes in the fluorescence spectra of intact pea leaves after photoinhibition. Biochem Cell Biol, 69 (5~ 6): 399~ 403
- Hamp R, Sankhla N, Humber W. 1975. Effect of EM D- IT- 5914 on chlorophyll synthesis in leaves of *Pennisetum typhoides* seedlings. Physiol Plant, 33 53~ 57
- Hassan S A, Albert R, Bigler F, et al. 1987. Results of the third joint pesticide testing program by the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". J Appl Entomol, 103 (1): 92~ 107
- Holden M. 1961. The breakdown of chlorophyll by chlorophyllase. Biochem J, 78 359~ 364
- Klein A O, Vishniac W. 1961. Activity and partial purification of chlorophyllase in aqueous systems. J Biol Chem, 236 (9): 2544~ 2547
- Mathis J N, Burkey K O. 1989. Light intensity regulates the accumulation of the major light

- harvesting chlorophyll– protein in greening seedlings. *Plant Physiol*, 90 (2): 560~ 566
- Moran R, Vernon L P, Porath D, et al. 1990. Developmental stages of cucumber seedlings. Kinetics of chlorophyll accumulation and other growth parameters. *Plant Physiol*, 92 1075~ 1080
- Newell W R, Van Ameronger H, Barber J et al. 1991. Spectroscopic characterization of the reaction center of photosystem II using polarized light evidence for β -carotene excitons in PS II reaction centers. *Biochim Biophys Acta*, 1057 (2): 232~ 238
- Pophaly D J, Marwaha K K. 1987. Evaluation of foliar sprays against the tuber flea beetle, *Epitrix tuberis* Gentner (Coleoptera: Chrysomelidas), on potato. *Can Entomol*, 123 (2): 321~ 331
- Wawrzyniak M. 1988. Susceptibility of *Apanteles glomeratus* L. to insecticides applied against its host. *Rocz Nauk Roln Ser E*, 17 (2): 225~ 235

EFFECTS OF DELTAMETHRIN ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND ACTIVITIES OF CHLOROPHYLLASE AND δ -AMINOLEVULINATE SYNTHASE IN CUCUMBER LEAVES

Zheng Dong¹ Huang Zhuolie²

(1 Dept. of Horticulture, 2 College of Biotechnology, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Ten days after cucumber seedlings were sprayed with $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ deltamethrin, the total content of chlorophyll decreased by 44. 62%; the contents of chlorophyll a and b also decreased. The ratio of chlorophyll a/b was reduced from 2. 736 to 2. 540. The content of carotenoids increased by 93. 422% over the control. At the fourth day after the cucumber seedlings were sprayed with $50 \sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ deltamethrin, the content of total chlorophyll decreased by 7. 080% ~ 30. 546%; the content of chlorophyll a decreased by 9. 908% ~ 33. 486%; the content of chlorophyll b decreased by 0 ~ 22. 392%. Deltamethrin at a concentration of $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ increased the content of carotenoids by 83. 358%. When the seedlings were treated with $50 \sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ deltamethrin, the activity of chlorophyllase increased by 12. 311% ~ 38. 256%; but the activity of δ -aminolevulinate synthase decreased by 2. 705% ~ 22. 858%. The mechanism of the influence of deltamethrin on chlorophylls was discussed in the paper.

Key words chlorophylls; carotenoids; cucumber; chlorophyllase; δ -aminolevulinate synthase