

去莠津对黄瓜幼苗过氧化氢酶活性的影响

郑 东¹ 黄卓烈²

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

摘要 研究表明, 5 ~ 20 mg·L⁻¹的去莠津使黄瓜叶片过氧化氢酶活性和蛋白质含量分别升高 7.55% ~ 10.07% 和 1.42% ~ 7.67%。10 ~ 20 mg·L⁻¹的去莠津分别使黄瓜叶片 DNA 和 RNA 含量升高 8.17% ~ 10.95% 和 4.47% ~ 8.69%。去莠津对离体的过氧化氢酶活性无影响。放线菌酮对低浓度去莠津刺激过氧化氢酶活性和蛋白质含量增高有明显的抑制作用。讨论了低浓度的去莠津影响过氧化氢酶活性的可能机理。

关键词 去莠津; 黄瓜; 过氧化氢酶

中图分类号 Q 946

去莠津(atrazine)是一种均三氮苯类农药, 在世界范围内使用量相当大。据研究, 这种农药在高浓度时可以破坏植物叶绿体的结构, 降低光合作用强度, 降低植物的光合作用放氧量。而使用浓度较低时, 去莠津却又有类似生长素的作用特性, 抑制叶绿素降解, 促进根生长, 刺激体内氨基酸含量和可溶性糖含量增加(Osman et al, 1988), 增加体内叶绿素含量(Sairam et al, 1986), 增强 CO₂ 固定能力。适量浓度的去莠津对植物体内的过氧化物酶活性有抑制作用, 而使乙醇酸氧化酶和硝酸还原酶活性升高。

过氧化氢酶能将植物体内代谢过程中所产生的 H₂O₂ 分解为 H₂O 和 O₂, 从而避免了 H₂O₂ 在体内积累而对机体的毒害。过氧化氢酶活性高低是机体自我解毒能力强弱的标志。本研究探讨去莠津对黄瓜叶片过氧化氢酶活性的影响, 以便为农业上正确使用去莠津提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

本试验采用黄瓜(*Cucumis sativus*)幼苗为材料。黄瓜幼苗盆栽, 自然光照。当幼苗长出 3 片真叶后, 即用各种浓度的去莠津喷施幼苗, 喷至叶片正反两面全湿为度。对照组用蒸馏水喷施。以后在规定的时间内, 每种处理各采集 25 株瓜苗上的第 1 片真叶洗净、晾干、剪碎, 充分拌匀后准确称取定量的碎叶测定各项指标。核酸含量测定 3 次重复, 其余项目测定 5 次重复。

1.2 测定方法

过氧化氢酶的提取用 Powles 等(1987)的方法。用于体外试验的过氧化氢酶的提取与部分纯化参考 Esaka 等(1982)的方法。过氧化氢酶活性测定用 Biswas 等(1978)的方法, 酶活性用每分钟每 g 蛋白质分解 H₂O₂ 的毫摩尔数[mmol·(g·min)⁻¹]表示。去氧核糖核酸(DNA)的提取用 Chen(1971)的方法; DNA 的含量测定用 Giles 等(1965)的方法。核糖核酸(RNA)的提取用 Stem(1968)的方法; RNA 含量测定用康德拉(1979)的方法。可溶性蛋白

质含量测定用 Bradford (1976)的方法。

2 结果与分析

2.1 去莠津对过氧化氢酶活性的影响

当用 5~250 mg·L⁻¹的去莠津喷施黄瓜幼苗 2 d 后,叶内的过氧化氢酶活性受到明显的影响(表 1)。使用浓度较低时,去莠津能刺激过氧化氢酶活性,其中刺激作用最明显的是 20 mg·L⁻¹,使过氧化氢酶活性上升 10.07%。而使用浓度较高时,去莠津对过氧化氢酶活性则有抑制作用。如 200 mg·L⁻¹的去莠津使过氧化氢酶活性下降 21.58%。而 250 mg·L⁻¹的去莠津则使黄瓜幼苗死亡。

表 1 不同浓度的去莠津对黄瓜叶片过氧化氢酶活性的影响

去莠津浓度/mg·L ⁻¹	0	5	10	20	50	100	200	250
过氧化氢酶活性/mmol·(g·min) ⁻¹	2.78	2.99	3.05	3.06	3.02	2.43	2.18	— ¹⁾
相对酶活性/(%)	100	107.55	109.71	110.07	108.63	87.41	78.42	—

1) 幼苗死亡

2.2 去莠津处理不同时间酶活性的变化

用 20 mg·L⁻¹的去莠津喷施黄瓜幼苗后,叶内过氧化氢酶活性的变化见表 2。随着处理时间的延长,过氧化氢酶活性有上升的趋势。到处理后第 8 d 时,酶活性比对照上升了 14.34%。到第 10 d 时,酶活性则有所下降,但仍然比对照高 12.00%。

表 2 去莠津(20 mg·L⁻¹)处理后不同时间对黄瓜过氧化氢酶活性的影响

处理后时间/d		0	1	2	4	6	8	10
过氧化氢酶活性/mmol·(g·min) ⁻¹	对照	2.86	2.90	2.84	2.79	2.80	2.79	2.75
	处理	2.86	2.99	3.10	3.12	3.14	3.19	3.08
处理比对照酶活性升高/(%)		0	3.10	9.15	11.83	12.14	14.34	12.00

2.3 去莠津对黄瓜叶片可溶性蛋白质含量的影响

当用各种浓度的去莠津处理黄瓜幼苗后,第 2 d 分别测定叶内蛋白质含量,结果(图 1)表明,低浓度的去莠津可刺激体内蛋白质含量升高。20 mg·L⁻¹的去莠津使蛋白质含量比对照升高了 7.67%。而高浓度的去莠津反而使蛋白质含量下降。200 mg·L⁻¹时,蛋白质含量比对照下降了 11.92%(图 1)。

2.4 去莠津对离体过氧化氢酶活性的影响

为了探讨低浓度的去莠津对黄瓜幼苗叶内过氧化氢酶活性的影响是间接的还是直接的,本试验将过氧化氢酶从黄瓜叶片中抽提出来后并经部分纯化 34.23 倍。酶的比活力为 95.16 μmolH₂O₂·(mg 蛋白质·min)⁻¹。然后再用去莠津处理酶的反应系统。结果

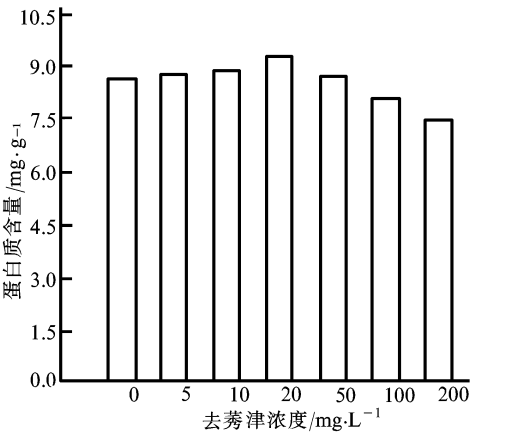


图 1 各种浓度的去莠津对黄瓜叶片蛋白质的含量的影响

(表 3)表明, 去莠津对离体过氧化氢酶活性几乎无影响。在去莠津浓度为 $1 \sim 7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 酶活性变化极小。

表 3 去莠津对离体过氧化氢酶活性的影响

去莠津浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0	1	3	5	7
过氧化氢酶活性/ $\text{mmol} \cdot (\text{g} \cdot \text{min})^{-1}$	95. 16	94. 84	95. 22	94. 99	94. 87

2.5 去莠津对黄瓜叶片核酸含量的影响

当用 $10 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去莠津喷施黄瓜幼苗 2 d 后, 叶片内的 DNA 含量受到明显的影响, 低浓度的去莠津可刺激体内 DNA 含量升高。例如 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去莠津使 DNA 含量升高 10. 95%。相反, 浓度较高时, 体内 DNA 含量下降。 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去莠津使 RNA 下降了 11. 99%。与此相似, 低浓度的去莠津处理使 RNA 含量上升, $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去莠津使 RNA 含量上升 8. 69%, 而 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去莠津却使 RNA 含量下降 12. 41%(表 4)。

表 4 去莠津对黄瓜幼苗核酸含量的影响

去莠津浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0	10	20	50	100
DNA 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	28. 77	31. 12	31. 92	30. 03	25. 32
DNA 相对含量/(%)	100	108. 17	110. 95	104. 38	88. 01
RNA 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	174. 31	182. 11	189. 45	171. 49	152. 67
RNA 相对含量/(%)	100	104. 47	108. 69	98. 38	87. 59

2.6 放线菌酮对去莠津刺激作用的抑制

放线菌酮是蛋白质合成的抑制剂。当用 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去莠津加不同浓度的放线菌酮处理黄瓜幼苗 2 d 后, 蛋白质含量明显受放线菌酮的影响。 $0. 6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的放线菌酮使体内蛋白质含量比对照下降 27. 20%。与此相应地, 放线菌酮处理抑制了 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去莠津对体内过氧化氢酶活性的刺激作用。 $0. 6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的放线菌酮处理使酶活性比对照下降了 25. 84%(表 5)。

表 5 放线菌酮对去莠津影响蛋白质含量和过氧化氢酶活性的抑制

$20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 去莠津+ 放线菌酮的浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0	0. 2	0. 4	0. 6
蛋白质含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	9. 08	8. 79	7. 68	6. 61
蛋白质相对含量/(%)	100	96. 81	84. 56	72. 80
过氧化氢酶活性/ $\text{mmol} \cdot (\text{g} \cdot \text{min})^{-1}$	2. 98	2. 87	2. 53	2. 21
相对酶活性/(%)	100	96. 31	84. 90	74. 16

3 讨论

Osman 等(1988)曾发现, 当用低浓度的去莠津处理玉米时, 体内的色氨酸、丝氨酸和甘氨酸含量大大上升。Rani 等(1978)用去莠津处理小麦, 能提高体内的氨基酸和蛋白质含量。Tewari 等(1976)用去莠津处理胡芦巴(*Trigonella foenum — graecum*)时, 体内的游离氨基酸和蛋白质含量都有较大幅度的增加。Kluge 等(1977)用去莠津处理烟草叶片时, 体内蛋白质含量显著提高。Beaumont 等(1976)用去莠津处理浮萍(*Lemna mina* L.)时, 发现其体内的叶绿素、可溶性蛋白、总氮和可溶性氮都大量增加。Sai ram 等(1986)用去莠津对燕麦喷雾

处理,也大大增加体内蛋白质和叶绿素含量。大量的试验表明,去莠津在低浓度时确有类似生长素的活性,对植物的生长发育和体内代谢有调节作用。

在本试验中发现,低浓度的去莠津可刺激黄瓜体内过氧化氢酶活性,但对体外过氧化氢酶活性无影响。说明去莠津对体内过氧化氢酶活性的刺激作用不是直接的,而是通过某些途径间接起作用的。本试验结果还发现,低浓度的去莠津可以增加黄瓜体内 DNA 和 RNA 含量,增加蛋白质含量。并且,当用蛋白质合成抑制剂放线菌酮进行处理时,蛋白质含量的增加即受到抑制。随之,过氧化氢酶活性上升也相应受到抑制。这些试验结果证明,使用低浓度的去莠津处理黄瓜幼苗时,可能首先刺激基因表达,合成 DNA 和 RNA,进而促进合成过氧化氢酶的酶蛋白。后者再与辅因子结合成全酶,从而表现出酶活性升高。这可能便是低浓度的去莠津间接促进黄瓜过氧化氢酶活性的原因。但具体机理有待进一步研究。

参 考 文 献

- 康德拉,阿培尔. 1979. 分子生物学方法. 李申德译. 北京: 科学出版社, 94~96
- Beaumont G, Bastin R, Therrien H P. 1976. Physiological effects of sublethal rates of atrazine on *Lemna mina* L. 1. Effect on growth, chlorophyll content, protein and total and soluble nitrogen. *Natur Can*, 103(6): 527~533
- Biswas A K, Choudhuri M A. 1978. Differential behaviour of flag leaf in intact rice plant during ageing. *Biochem Physiol Pflanzen*, 173: 220~240
- Bradford M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye bindings. *Anal Biochem*, 72: 248~255
- Chen H R. 1971. Deoxyribonucleic acid of mung bean embryonic axes. *Biochim Biophys Acta*, 240: 195~202
- Esaka M, Asahi T. 1982. Purification and properties of catalase from sweet potato root microbodies. *Plant Cell Physiol*, 23(2): 315~322
- Giles K W, Myers A. 1965. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*, 206: 93
- Kluge S, Paunow S, Schuster G. 1977. On the action of some metabolically active substances on the protein content and the multiplication of viruses in leaves of *Nicotiana tabacum* L. *Phytopath Z*, 88(1): 11~17
- Osman R O, Ahmed F A, Khalil F A, et al. 1988. Effect of some herbicides as plant growth regulator on the chemical composition of *Zea mays* grain. *Food Chem*, 28(3): 167~176
- Powles S B, Cornic G. 1987. Mechanism of paraquat resistance in *Hordeum glauum*. I. Studies with isolated organelles and enzymes. *Austr J Plant Physiol*, 14: 81~89
- Rani U, Sakri F A K. 1978. Effect of subtoxic application of atrazine and simazine on the nitrogenous components of the developing kernels of atrazine of two wheat varieties. *Indian J Agr Sci*, 48(3): 165~167
- Sairam R K, Tomer P S, Harika A S. 1986. Effect of subhebicidal levels of 2,4-D, isoproturon and atrazine on the nitrogen metabolism and growth of oats (*Avena sativa* Linn.). *Indian J Plant Physiol*, 29(3): 237~242
- Stern H. 1968. Isolation and purification of plant nucleic acids from whole tissues and from isolated nuclei. *Methods Enzymol*, 12(Part B): 100~112
- Tewari M N, Balasimha D, Ram G. 1976. Biochemical changes in the germinating seeds of *Trigonella foenum-graecum* L. in relation to S-triazine herbicide. *Biol Plant*, 18(4): 268~272

EFFECT OF ATRAZINE ON THE ACTIVITY OF CATALASE IN CUCUMBER LEAVES

Zheng Dong¹ Huang Zhuolie²

(1 Dept of Horticulture, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642;

2 College of Biotechnology, South China Agr. Univ.)

Abstract

The results of this investigation indicated that 5 ~20 mg °L⁻¹ atrazine increased the activity of catalase and protein content in cucumber leaves by 7. 55% ~10. 07%, and 1. 42% ~7. 67%, respectively. Atrazine in 10 ~20 mg °L⁻¹ increased the contents of DNA and RNA by 8. 17% ~10. 95%, and 4. 47% ~8. 69%, respectively. Atrazine had no effect on *in vitro* catalase activity. Cycloheximide significantly inhibited the promoting effects of atrazine on protein content and catalase activity. The action mechanism of atrazine on catalase activity was discussed.

Key words atrazine; cucumber; catalase

(上接第 80 页)

EFFECTS OF INTERMITTENT WARMING ON THE LEVELS OF ENDOGENOUS POLYAMINES AND ACC OF MANGO FRUITS

Zhang Zhaoqi Hong Hanjun Li Xueping Ji Zuoliang

(Dept. of Hort., South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Mango fruits were chilled at 2 °C, when chilling injury induced increase in polyamines levels, especially SPD and SPM levels but had no significant effect on CAD and PUT. Chilling injury also induced the accumulation of ACC in the mango pericarp. Intermittent warming markedly alleviated chilling injury of mango fruits, delayed the increase of polyamines levels and the accumulation of ACC in the mango pericarp.

Key words *Mangifera indica* L.; chilling injury; polyamines; ACC