

文章编号: 1001-411X(2001)01-0063-03

二氯苯醚菊酯对黄瓜叶片几种氧化酶活性的影响

关日强, 黄卓烈

(华南农业大学生物技术学院, 广东 广州 510642)

摘要: 研究表明, 二氯苯醚菊酯(PER)对黄瓜几种氧化酶活性有不同程度的影响, 其影响的程度与 PER 的浓度有关。20~400 mg·L⁻¹的 PER 分别使黄瓜体内的过氧化氢酶和乙醇酸氧化酶活性升高 33.5%~32.71%和 4.42%~34.51%。20~200 mg·L⁻¹的 PER 使过氧化物酶活性升高 9.70%~29.10%; 50~250 mg·L⁻¹的 PER 使吲哚乙酸氧化酶活性升高 13.58%~32.10%; 50~300 mg·L⁻¹的 PER 使抗坏血酸氧化酶活性下降 3.18%~20.69%。用 200 mg·L⁻¹的 PER 处理黄瓜幼苗 1~6 d 后, 体内过氧化物酶活性升高 10.37%~43.17%。

关键词: 黄瓜; 二氯苯醚菊酯; 过氧化氢酶; 过氧化物酶; 乙醇酸氧化酶; 抗坏血酸氧化酶; 吲哚乙酸氧化酶

中图分类号: Q946

文献标识码: A

二氯苯醚菊酯(permethrin, PER)是一种拟除虫菊酯杀虫剂。张大第等^[1]曾经研究了 PER 在蔬菜作物上的使用效果, 测得其降解半衰期为(2.2±0.9) d。降解 90%的时间是(7.2±3.0) d。由于其残毒性低, 杀虫效果好, 因而在农业生产上广泛用于防治各种作物的害虫。然而, 这种农药在农作物上使用后, 是否对农作物有某些副作用, 这方面还未引起科学家的重视。Gandhi 等人^[2]曾经用 PER 处理莱茵衣藻的细胞, 发现其细胞内的叶绿素含量下降。在处理以后的一段时间内, 其体内的叶绿素含量不会恢复到原来的水平。这说明 PER 对植物是有一定的毒性的。但是, PER 是否对农作物细胞的生理生化有影响? 这方面尚少见报道。本试验研究 PER 在黄瓜幼苗上使用后, 对几种氧化酶活性的影响, 以期对农业上使用 PER 提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料及其处理

黄瓜(*Cucumis sativus*)幼苗盆栽, 自然光照培育幼苗。当幼苗长至第 3 片真叶全开时, 用各种浓度的 PER 喷施, 喷至叶片正反面全湿为度。对照则用蒸馏水喷至正反两面全湿。喷后在规定的时间内采样。每处理分别从 25 株植株上剪取其第一片真叶。采后先用水洗干净, 然后用蒸馏水冲洗 2 遍。晾干后剪碎混匀, 从中称取定量碎叶测定各项指标。各项目测定均设 3 次重复。

1.2 酶活性测定方法

过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用 Biswas 等^[3]的方法, 以每分钟每毫克蛋白质分解 1 μmol H₂O₂ 的

酶量为一个活力单位[μmol·(mg·min)⁻¹]。乙醇酸氧化酶(GO)活性的测定用 Mukherjee 等^[4]的方法, 活性用每分钟每毫克蛋白质使反应产物在 340 nm 吸光度变化 0.01 的酶量为一个活力单位[U·(mg·min)⁻¹]。过氧化物酶(POD)的提取和活性测定用 Kar 等^[5]的方法略作修改。酶活性用每分钟每毫克蛋白质催化 1 μmol 愈创木酚转化为产物的酶量为一个活力单位[μmol·(mg·min)⁻¹]。抗坏血酸氧化酶(AO)的提取和活性测定用 Chinoy 等^[6]的方法, 活性用每分钟每毫克蛋白质催化 1 μg 抗坏血酸氧化的酶量为一个活力单位[μg·(mg·min)⁻¹]。吲哚乙酸氧化酶(IAO)的测定用 Ramadas 等^[7]的方法, 酶活性用每分钟每毫克蛋白质催化 1 μmol 吲哚乙酸氧化的酶量为一个活力单位[μmol·(mg·min)⁻¹]。蛋白质含量的测定用 Bradford^[8]的方法。

2 结果与分析

2.1 PER 对黄瓜叶片 CAT 活性的影响

当用各种浓度的 PER 喷施黄瓜幼苗 2 d 后, 叶片体内的 CAT 活性受到明显的影响。随着 PER 浓度升高, CAT 活性相应升高。在 ρ(PER)为 400 mg·L⁻¹ 时, CAT 活性比对照升高 32.71%(表 1)。相关性分析结果表明, CAT 活性的升高与 PER 的浓度呈正相关。其相关系数达 0.919 7。显著性测验结果, 相关系数极显著。表明其间的关系是强烈正相关(表 2)。此外, 由于其决定系数是 0.845 9, 说明本试验中 CAT 活性的升高在 84.59% 的程度是由 PER 的浓度变化决定的, 其他原因造成 CAT 活性升高的可能性最多只有 15.41% 的程度。

表1 PER对黄瓜叶片CAT活性的影响

Tab. 1 Effect of PER on the activities of CAT in cucumber leaves

项目 item	$\rho(\text{PER})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$						
	0	20	50	100	200	300	400
CAT 活性 activity of CAT/ $[\mu\text{mol}\cdot(\text{mg}\cdot\text{min})^{-1}]$	2.69	2.78	3.05	3.22	3.44	3.53	3.57
相对百分率 relative percentage/ %	100.00	103.35	113.38	119.70	127.88	131.23	132.71

表2 几种酶活性变化与PER浓度变化的相关性及其显著性测验

Tab. 2 The correlations and their significance test between the enzyme activities and PER concentrations

酶类 enzymes	相关系数 correlation coefficient	决定系数 coefficient of determination	<i>s</i>	<i>t</i>	$t_{0.05}$	$t_{0.01}$
CAT	0.919 7	0.845 9	0.175 6	5.239 **	2.447	3.707
GO	0.934 5	0.873 3	0.159 2	5.871 **	2.447	3.707
AO	-0.912 9	0.833 5	0.182 5	5.003 **	2.447	3.707
IAO	0.928 4	0.861 9	0.166 2	5.586 **	2.447	3.707

2.2 PER对黄瓜叶片GO活性的影响

当用各种浓度的PER处理黄瓜幼苗2d后,叶片体内的GO活性也受到明显的影响.在试验浓度范围内,各种浓度均能提高GO活性.在 $\rho(\text{PER})$ 为 $400\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,GO活性比对照升高34.51%(图1).相关性分析结果(表2)表明,相关系数为0.9345,表明GO活性的升高与PER浓度呈正相关.显著性测验结果,相关系数极显著.此外,由于其决定系数为0.8733,说明在此条件下,GO活性的上升有87.33%的可能性是由PER的浓度改变引起,其他原因所造成GO活性的升高只有12.67%的可能性.

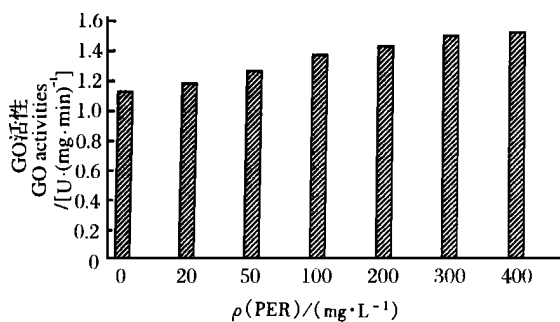


图1 PER对黄瓜叶片GO活性的影响

Fig. 1 Effects of PER on GO activities in cucumber leaves

2.3 PER对黄瓜叶片POD活性的影响

各浓度的PER对黄瓜叶片POD活性的影响见图2.在 $\rho(\text{PER})$ 为 $200\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下时,随着 $\rho(\text{PER})$ 的升高,活性逐渐升高.在 $\rho(\text{PER})$ 为 $200\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD活性比对照升高29.10%,达最高值. $\rho(\text{PER})$ 继续增大时,酶活性反而有所下降.例如 $\rho(\text{PER})$ 在 $400\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD活性只比对照升高14.93%.当用 $200\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PER喷施黄瓜幼苗后,叶片内的POD活性随着处理时间的延长而升高.到处理第6d时,POD活

性比对照升高43.17%.上升的幅度是较高的(图3).

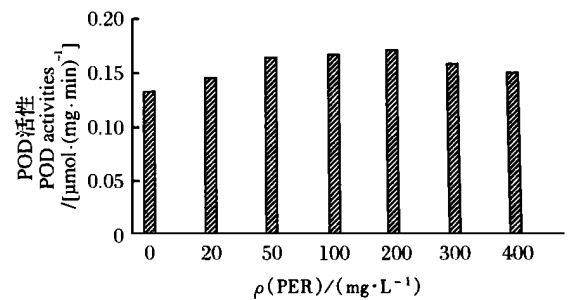


图2 PER对黄瓜叶片POD活性的影响

Fig. 2 Effects of PER on POD activities in cucumber leaves

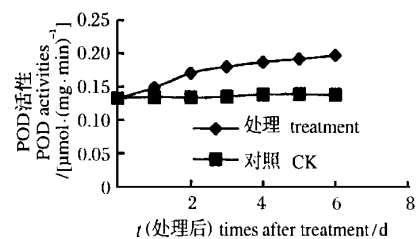


图3 喷施PER后不同时间对POD活性的影响

Fig. 3 Change of POD activities after treatment with 200 mg/L PER

2.4 PER对黄瓜叶片AO活性的影响

各种浓度的PER对黄瓜叶片AO活性的影响效果见图4.结果表明, $\rho(\text{PER})$ 为 $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下时,AO活性几乎不受影响.而当 $\rho(\text{PER})$ 大于 $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,AO活性则会下降. $\rho(\text{PER})$ 升到 $300\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,AO活性比对照下降20.69%.相关性分析表明,其相关系数为-0.9129,表明AO活性与PER的浓度成负相关.显著性测验结果表明,其负相关系数极显著.再之,其决定系数为0.8335,说明在此条件下,AO活性的下降有83.35%的可能性是由PER的浓度

升高造成的, 其他原因造成 AO 活性下降的可能性只有 16.65% (表 2)。

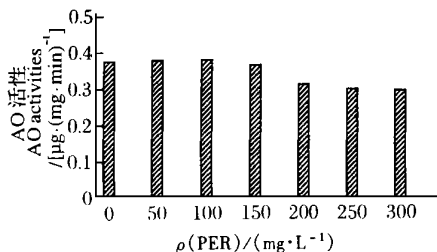


图 4 PER 对黄瓜叶片 AO 活性的影响

Fig. 4 Effects of PER on AO activities in cucumber leaves

2.5 PER 对黄瓜叶片 IAO 活性的影响

各浓度 PER 对 IAO 活性的影响见图 5。在 PER 供试浓度范围内, IAO 活性随其浓度的升高而升高。低浓度(80 mg·L⁻¹)时, 酶活性上升的幅度较大; PER 浓度较高时, 酶活性上升的幅度变小。在 $\rho(\text{PER})$ 为 250 mg·L⁻¹ 时, IAO 活性比对照上升 32.10%。相关性分析表明, 其相关系数是 0.9284, 说明 IAO 活性的升高与所用的 PER 浓度成正相关。显著性测验结果表明, 相关系数极显著。由于其决定系数为 0.8619 (表 2), 本试验中 IAO 活性的上升有 86.19% 的可能性是由 PER 的浓度变化造成的, 其他原因所造成的 IAO 活性上升的可能性最多只有 13.81%。

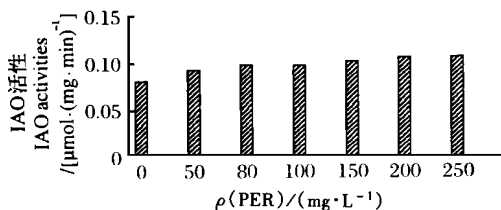


图 5 PER 对黄瓜叶片 IAO 活性的影响

Fig. 5 Effects of PER on IAO activities in cucumber leaves

3 讨论

在植物体内存在着多种氧化酶。不同的氧化酶参与不同的代谢途径。CAT 在多种代谢途径中都起重要作用。在体内, CAT 催化代谢中形成的 H₂O₂ 分解生成 H₂O 并放出 O₂, 从而减少了 H₂O₂ 对机体的毒害。POD 是一种多功能酶。在植物体内, POD 可参与多种代谢。此酶可将体内 H₂O₂ 和其他一些有害的中间产物分解掉, 对调节细胞代谢起着较大的作用。而且, 植物体的抗逆性强弱与 POD 的活性高低有直接关系。GO 是光呼吸乙醇酸途径中关键性的酶。其活性高低直接与光呼吸的强度有关。而光呼吸作用则是光合作用碳代谢紧密联系的生理过程。AO 在体内将抗坏血酸氧化成脱氢抗坏血酸, 其作用与生物氧化的电子传递有关^[9], 因而是一个重要的酶。IAO 则

与体内的激素代谢有关。在体内, 吲哚乙酸是一种重要的生长素, 对植物的芽、根等器官的形态建成、生化代谢的调节都起重要作用。此酶不仅作用于吲哚乙酸, 而且还有与多酚氧化酶相同的活性部位, 因而还可以作用于多酚类化合物^[10]。可见, IAO 也是一种多功能的酶。

本研究的结果表明, 农业生产上大量应用的 PER 对植物体内的 CAT、POD、GO、AO 和 IAO 的活性都有影响。而这几种酶分别代表着体内不同的代谢途径, 因而可推知, PER 对植物体内多种代谢都有不同程度的影响, 其影响的大小与所使用 PER 的浓度有关。因此, 在使用 PER 杀灭害虫的同时, 也对农作物的生理生化过程带来不同程度的副作用, 直接影响作物的代谢。这是一个不可忽视的重要方面。至于 PER 对植物各类代谢影响的机理还要作深入的研究。只有充分了解该农药的正反两方面的作用, 才能扬长避短地合理使用之。

参考文献:

- [1] 张大第, 张晓红, 徐正泰, 等. 四种拟除虫菊酯在蔬菜上的残留降解及其起始残留浓度[J]. 中国环境科学, 1990, 10(4): 277-284.
- [2] GANDHI S R, KULKARNI S B, NETRAWALIM S. Comparative effects of synthetic insecticide-endosulfan, phosalone and permethrin on *Chlamydomonas reinhardtii* algal cells[J]. Acta Microbiol Hung, 1988, 35(2): 93-99.
- [3] BISWAS A K, CHOUDHURI M A. Differential behaviour of flag leaf of intact rice plant during ageing[J]. Biochem Physiol Pflanzen, 1978, 173: 220-240.
- [4] MUKHERJEE S P, CHOUDHURI M A. Effect of water stress on some oxidative enzymes and senescence in *Vigna* seedlings[J]. Physiol Plant, 1981, 52: 37-42.
- [5] KAR M, MISHRA D. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence[J]. Plant Physiol, 1976, 57: 315-319.
- [6] CHINYOY J J, SINGH Y D, GURUMURTI K. Colourimetric determination of ascorbic acid turnover in plants[J]. Indian J Plant Physiol, 1976, 19: 122-130.
- [7] RAMADAS V S, RAO J V S, RAO K N. Changes in endogenous growth regulators during fruit development in *Citrullus colocynthis*[A]. Sircar S M. Proc Int Symp Plant Growth Substances[C]. Calcutta: Eka Press, 1968, 41-46.
- [8] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [9] FINAZZI-AGRO A. Ascorbate oxidase[J]. Life Chem Rep, 1987, 5(1-4): 199-209.

(下转第 73 页)

Metabolism of glucose by human embryos[J] . *Reprod Fert*, 1987, 79: 289—297.

from mice[J] . *Biol Reprod*, 1994, 50: 266—270.

[10] SAITO T, HIROI M, KATO T. Development of glucose utilization studied in single oocytes and preimplantation embryos

[11] BRISON D R, LEESE H J. Energy metabolism in late preimplantation rat embryos[J] . *Reprod Fert*, 1991, 93: 245—251.

The Detection of PFK Gene Transcripts by Nested RT-PCR in Early Embryos of Kunming Mouse

WANG Chong, ZHANG Shou-quan, YANG Guan-fu

(Dept. of Animal Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Inner and outer primer pair were designed and synthesized according to the cDNA sequence of liver type phosphofruktokinase (PFK) of the mouse. A nested reverse transcriptase-polymerase chain reaction (Nested RT-PCR) was used to determine the transcript pattern of mRNA encoding mouse PFK throughout 1-, 2-, 4-, 8-cell and morulae embryos. The results showed that 1-cell to morulae mouse embryos mRNA could be amplified to give an expected band using the inner primer pair on the templates provided by the products of the first PCR using the outer primer pair. These observations indicated that the transcripts of PFK gene existed and that the PFK of early mouse embryos is of the liver type. Glycolysis and tricarboxylic acid cycle (TCA) appear to be the important mode of glucose metabolism in 1-cell to morulae mouse embryos.

Key words: Kunming mouse; early embryos; PFK; RT-PCR; gene transcripts

【责任编辑 柴 焰】

(上接第 65 页)

[10] SRIVASTAVA O B, van HUYSTEE R B. An interrelationship among peroxidase, IAA oxidase and polyphenol oxidase from

peanut cells[J] . *Can J Bot*, 1977, 55: 2 630—2 635.

Effects of Permethrin on Several Oxidative Enzyme Activities in Cucumber Leaves

GUAN Ri-qiang, HUANG Zhuo-lie

(College of Biotechnology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The results of this investigation indicated that permethrin (PER) in 20 ~ 400 mg °L⁻¹ increased the activities of catalase and glycolate oxidase in cucumber leaves by 3.35% ~ 32.71% and 4.42% ~ 34.51%, respectively. PER in 20 ~ 200 mg °L⁻¹ increased the activity of peroxidase by 9.70% ~ 29.10%. PER in 50 ~ 250 mg °L⁻¹ increased the activity of indoleacetic acid oxidase by 13.58% ~ 32.10%. The activity of ascorbate oxidase was decreased by 3.18% ~ 20.69% by PER in the concentrations of 50 ~ 300 mg °L⁻¹. After the cucumber seedlings were treated with 200 mg °L⁻¹ PER for 1 ~ 6 days, the activity of peroxidase increased by 10.37% ~ 43.17%.

Key words: cucumber; permethrin; catalase; peroxidase; glycolate oxidase; ascorbate oxidase; IAA oxidase

【责任编辑 柴 焰】