

文章编号: 1001-411X(2001)02-0052-04

二氯苯醚菊酯对黄瓜光合色素及有关酶活性的影响

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: 用 $50 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的二氯苯醚菊酯(PER)处理黄瓜幼苗 48 h, 叶绿素(Chl)总量、Chl a、Chl b、原 Chl 分别比对照下降 5.55% ~ 46.43%, 5.94% ~ 48.87%, 4.28% ~ 38.53% 和 4.43% ~ 30.54%。其相关系数分别是 -0.988 7, -0.989 7, -0.983 1, -0.992 0。用 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PER 处理 6 d 后, Chl 总量、Chl a、Chl b、原 Chl 和类胡萝卜素含量分别下降 41.62%、43.30%、36.62%、27.84% 和 36.47%。用 $50 \sim 350 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PER 处理黄瓜幼苗 48 h 后, 叶绿素酶活性比对照升高 4.72% ~ 22.61%; 而 δ -氨基乙酰丙酸(ALA)合酶和 ALA 脱水酶活性分别比对照下降 8.07% ~ 31.92% 和 3.30% ~ 29.77%。讨论了 PER 影响 Chl 含量的可能机理。

关键词: 黄瓜; 二氯苯醚菊酯; 光合色素; 叶绿素酶; 氨基乙酰丙酸合酶; 氨基乙酰丙酸脱水酶

中图分类号: Q946

文献标识码: A

二氯苯醚菊酯(permethrin, PER)是一种化学合成的拟除虫菊酯。张大弟等^[1]曾经研究了 PER 在蔬菜作物上的使用效果, 其降解半衰期为 $(2.2 \pm 0.9) \text{ d}$, 降解 90% 的时间是 $(7.2 \pm 3.0) \text{ d}$ 。由于这种农药残毒性低, 杀虫效果好, 因而在农业上广泛用于防治各种农作物害虫。然而, 这种农药在农作物上用于防治害虫的同时, 是否对农作物的生理生化过程有影响, 国内外尚少见报道。为此, 本试验研究生产上常用质量浓度的 PER 在黄瓜幼苗上使用后对光合色素含量及叶绿素(Chl)代谢有关的酶活性的影响, 为农业生产上合理使用 PER 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

二氯苯醚菊酯(PER)为泰国产的 $w = 37\%$ 的乳液, 使用时用水稀释到所需浓度。黄瓜(*Cucumis sativus*)幼苗盆栽培育, 自然光照。当第三片真叶展开时, 用不同质量浓度的 PER 喷施至正反叶面全湿。对照用蒸馏水同样喷施。处理后在规定时间内取样。每种处理分别从 25 个植株上剪取其第一片真叶, 经自来水和蒸馏水冲洗, 吸干, 剪碎混匀, 称取定量碎叶测定各项指标。

1.2 测定方法

叶绿素酶的提取和测定参考 Fernandez-Lopez^[2] 等方法, 以每小时每毫克蛋白催化生成 $1 \mu\text{g}$ 脱植基叶绿素[$\mu\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{h})$] 为 1 个叶绿素酶单位。Chl 总量、Chl a、Chl b 和原 Chl 的测定用 Moran 等^[3,4] 的方法。类胡萝卜素(Car)的测定采用 Moran 等^[5] 的方法, 以每克鲜质量在 480 nm 波长下, 增加一个光吸收单位的类胡萝卜素的量为一个单位($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)表示^[5]。

δ -氨基乙酰丙酸(ALA)合酶的提取和活性测定用 Hampp 等^[6] 方法, 以每小时每毫克蛋白质催化生成 1 nmol 的 ALA[$\text{nmol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$] 为 1 个活力单位。ALA 脱水酶活性的测定用 Pablic 等^[7] 的方法, 以每小时每毫克蛋白质催化生成 1 nmol 胆色素原[$\text{nmol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$] 为 1 个活力单位。蛋白质含量测定用 Bradford^[8] 的方法, 以牛血清蛋白为标准。

2 结果与分析

2.1 PER 浓度对叶绿素含量的影响

经 $50 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PER 喷施 48 h 后, 随施用浓度的升高, Chl 含量相应下降(表 1)。Chl 总量、Chl a、Chl b 和原 Chl 分别比对照下降 5.55% ~ 46.43%, 5.94% ~ 48.87%, 4.28% ~ 38.53% 和 4.43% ~ 30.54%。Chl a 下降速率比 Chl b 快, 因而 Chl a/Chl b 比值逐渐降低。Chl 含量变化与 PER 浓度成负相关。各相关系数均极显著(表 2)。由决定系数可见, Chl 总量、Chl a、Chl b、原 Chl 含量的变化分别有 97.74%、97.94%、96.66% 和 98.40% 的可能性是由 PER 浓度的变化造成的, 而其他因素引起其含量变化的可能性是由 PER 浓度的变化造成的(表 2)。

2.2 PER 处理后不同时间对叶绿素含量的影响

用 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PER 喷施后, 随着时间的延长, Chl 含量均相应下降(表 3)。6 d 时, Chl 总量、Chl a、Chl b、原 Chl 分别下降了 41.62%、43.30%、36.62% 和 27.84%。Chl 变化与时间呈负相关, 相关系数均达显著水平(表 4)。此外, 由决定系数可见, Chl 总量、Chl a、Chl b、原 Chl 含量变化分别有 85.48%、81.52%、96.99% 和 96.36% 的可能性是由 PER 处理后不同的作用时间所引起(表 4)。

表 1 不同浓度的 PER 对黄瓜叶片 Chl、Car 含量的影响¹⁾

Tab. 1 Effects of permethrin in different concentrations on chlorophyll and carotenoid contents in cucumber leaves								
项目 item	$\rho(\text{PER})/(\text{mg}^\circ\text{L}^{-1})$							
	0	50	100	150	200	250	300	400
w(Chl 总 total chlomophyll)/(mg $^\circ\text{g}^{-1}$)	1. 387 (1)	1. 310 (0. 944)	1. 207 (0. 870)	1. 114 (0. 803)	1. 072 (0. 773)	0. 984 (0. 709)	0. 804 (0. 580)	0. 743 (0. 536)
w(Chl a)/(mg $^\circ\text{g}^{-1}$)	1. 060 (1)	0. 997 (0. 941)	0. 913 (0. 861)	0. 843 (0. 795)	0. 807 (0. 761)	0. 740 (0. 698)	0. 597 (0. 563)	0. 542 (0. 511)
w(Chl b)/(mg $^\circ\text{g}^{-1}$)	0. 327 (1)	0. 313 (0. 957)	0. 294 (0. 899)	0. 271 (0. 829)	0. 265 (0. 810)	0. 244 (0. 746)	0. 207 (0. 633)	0. 201 (0. 615)
w(原 Chl protochlorophyll)/(mg $^\circ\text{g}^{-1}$)	0. 203 (1)	0. 194 (0. 956)	0. 185 (0. 911)	0. 181 (0. 892)	0. 172 (0. 847)	0. 170 (0. 837)	0. 161 (0. 793)	1. 141 (0. 695)
w(Chl a)/w(Chl b)	3. 242	3. 185	3. 105	3. 111	3. 045	3. 033	2. 884	2. 697
Car 含量 carotenoid content/(U $^\circ\text{g}^{-1}$)	3. 863 (1)	3. 718 (0. 963)	3. 701 (0. 958)	3. 512 (0. 909)	3. 210 (0. 831)	2. 987 (0. 773)	2. 764 (0. 716)	2. 512 (0. 650)

1) Chl 6 次重复, Car 4 次重复, 表中括号内数值为该处理与对照的比值(即该处理的相对含量)

表 2 不同 PER 浓度对叶绿素含量影响的相关性分析

Tab. 2 The correlation analysis for the changes of chlorophyll contents to permethrin concentrations						
叶绿素 chlorophylls	相关系数 correlation coeff.	决定系数 determination coeff.	S	t	t _{0.05}	t _{0.01}
Chl 总量 total chlomophyll	-0. 988 7	0. 977 4	0. 061 3	16. 125 **	2. 365	3. 499
Chl a	-0. 989 7	0. 979 4	0. 058 5	16. 911 **	2. 365	3. 499
Chl b	-0. 983 1	0. 966 6	0. 074 7	13. 169 **	2. 365	3. 499
原 Chl protochlorophyll	-0. 992 0	0. 984 0	0. 051 6	19. 219 **	2. 365	3. 499

表 3 用 250 mg $^\circ\text{L}^{-1}$ 的 PER 处理后叶绿素含量的变化¹⁾

Tab. 3 Changes of chlorophyll contents at different time after treatment with 250 mg $^\circ\text{L}^{-1}$ permethrin								
项目 item	处理 treatment	t(处理后 after treatment)/h						
		0	24	48	72	96	120	144
w(Chl 总 total chlomophyll)/(mg $^\circ\text{g}^{-1}$)	对照	1. 372	1. 384	1. 391	1. 379	1. 382	1. 299	1. 302
	处理	1. 372 (1)	1. 172 (0. 854)	0. 971 (0. 708)	0. 941 (0. 686)	0. 876 (0. 639)	0. 862 (0. 628)	0. 801 (0. 584)
w(Chl a)/(mg $^\circ\text{g}^{-1}$)	对照	1. 058	1. 066	1. 082	1. 062	1. 057	0. 984	1. 001
	处理	1. 058 (1)	0. 871 (0. 823)	0. 741 (0. 700)	0. 670 (0. 633)	0. 642 (0. 607)	0. 651 (0. 615)	0. 602 (0. 567)
w(Chl b)/(mg $^\circ\text{g}^{-1}$)	对照	0. 314	0. 318	0. 309	0. 317	0. 325	0. 315	0. 301
	处理	0. 314 (1)	0. 301 (0. 959)	0. 230 (0. 732)	0. 271 (0. 861)	0. 234 (0. 745)	0. 211 (0. 672)	0. 199 (0. 634)
w(原 Chl protochlorophyll) /(mg $^\circ\text{g}^{-1}$)	对照	0. 194	0. 201	0. 188	0. 195	0. 199	0. 204	0. 187
	处理	0. 194 (1)	0. 179 (0. 923)	0. 168 (0. 866)	0. 160 (0. 825)	0. 159 (0. 820)	0. 147 (0. 758)	0. 140 (0. 722)

1) 试验设 6 次重复, 表中括号内数值为该处理与对照的比值(即该处理的相对含量)

表 4 用 250 mg $^\circ\text{L}^{-1}$ PER 处理后叶绿素变化与时间关系的方差分析

Tab. 4 Correlation analysis of the relation between chlorophyll contents and time after treatment with 250 mg $^\circ\text{L}^{-1}$ permethrin							
Chl chlorophylls	相关系数 correlation coeff.	决定系数 determination coeff.	S	t	t _{0.05}	t _{0.01}	
Chl 总量 total chlomophyll	-0. 924 6	0. 854 8	0. 170 4	5. 425 **	2. 447	3. 707	
Chl a	-0. 902 9	0. 815 2	0. 101 2	4. 696 **	2. 447	3. 707	
Chl b	-0. 984 9	0. 969 9	0. 077 5	12. 073 **	2. 447	3. 707	
原 Chl protochlorophyll	-0. 981 6	0. 963 6	0. 085 5	11. 502 **	2. 447	3. 707	

2.3 PER 处理对类胡萝卜素含量的影响

用 50~400 mg·L⁻¹的 PER 喷施 48 h 后, Car 含量比对照下降 3.75%~34.97%(表 1). 且处理间的差异极显著(表 5). 而当用 250 mg·L⁻¹的 PER 处理后, 随着作用时间的延长, 体内 Car 的含量相应下降(图 1). 6 d 时下降了 36.47%. 相关系数为-0.956 0, 达极显著水平.

表 5 PER 对类胡萝卜素影响的方差分析

Tab. 5 Variance analysis of changes of carotenoid content due to different concentrations of permethrin						
变异来源 variation source	DF	SS	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
处理间 among treatments	7	6.834 2	0.976 3	20.50 **	2.43	3.50
误差 error	24	1.142 9	0.047 6			
总变异 total variation	31	7.977 1				

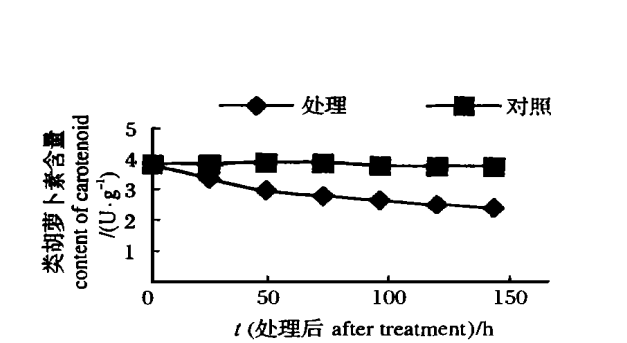


图 1 250 mg/L 的 PER 处理对黄瓜类胡萝卜素含量的影响
Fig. 1 Effect of 250 mg/L PER treatment on carotenoid content in cucumber leaves

2.5 PER 对黄瓜 ALA 合酶和 ALA 脱水酶活性的影响

用 50~350 mg·L⁻¹的 PER 处理 48 h 后, ALA 合酶活性比对照下降了 8.07%~31.92%(图 3), ALA 脱水酶活性比对照下降了 3.30%~29.77%(图 4).

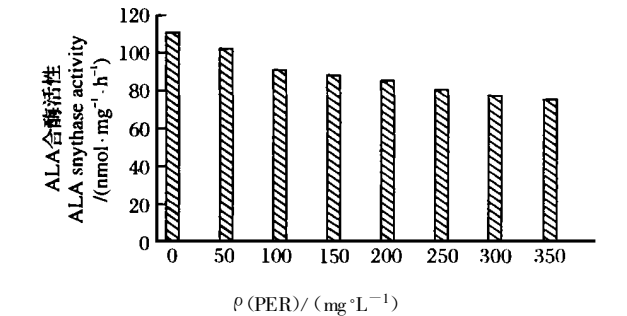


图 3 不同浓度 PER 对 ALA 合酶活性的影响
Fig. 3 Effect of different concentrations of permethrin on ALA synthase activity

3 讨论

Gandhi 等^[9] 曾用 PER 处理莱茵衣藻的细胞, 发现其引起 Chl 含量下降. 在处理后的一段时间内,

2.4 PER 对叶绿素酶活性的影响

用 50~350 mg·L⁻¹的 PER 喷施 48 h 后, 叶绿素酶活性分别比对照上升 4.72%~22.61%(图 2). 酶活性变化与 PER 浓度呈正相关, 相关系数为 0.981 2, 极显著. 此外, 其决定系数为 0.962 8, 表明本试验中叶绿素酶活性变化在 96.28% 的程度上是各种浓度的 PER 引起的.

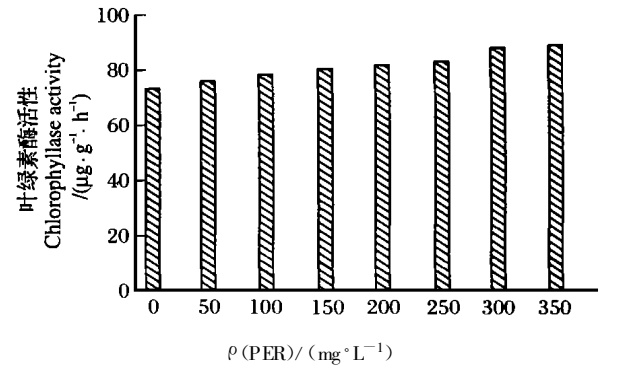


图 2 不同浓度的 PER 对叶绿素酶活性的影响
Fig. 2 Effect of PER concentrations on the activity of chlorophyllase

两种酶活性与 PER 的相关系数分别是-0.960 7 和 0.969 5, 均极显著. 由于其决定系数分别是 0.923 0 和 0.939 9, 表明两酶活性的变化分别有 92.30% 和 93.99% 的可能性是由不同浓度的 PER 作用所引起的.

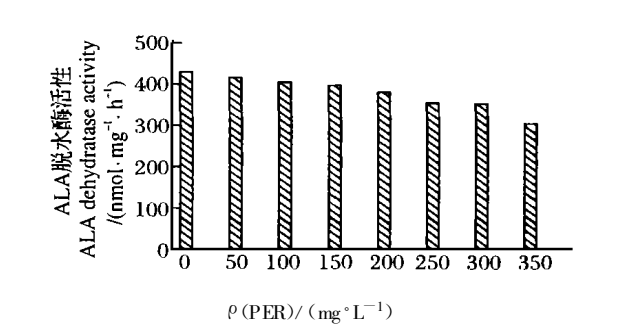


图 4 不同浓度的 PER 对 ALA 脱水酶活性的影响
Fig. 4 Effect of permethrin on the activity of ALA dehydratase

Chl 含量不能恢复到原来的水平. 在本试验中发现, 在黄瓜幼苗上使用 PER 后, 不但可以使各种 Chl 含量下降, 而且也使 Car 含量下降. 其作用机理尚未清楚. 但本试验对参与 Chl 代谢的 3 个酶活性的测定

似乎可部分地解释 Chl 降低的原因。Chl 生物合成 2 个重要的酶是 ALA 合酶和 ALA 脱水酶。ALA 合酶催化甘氨酸和琥珀酰辅酶 A 缩合成为 ALA。而 ALA 脱水酶则催化 ALA 转化成为胆色素原。这两个酶活性高低直接反映 Chl 生物合成速度的大小。用 PER 处理导致黄瓜 ALA 合酶和 ALA 脱水酶活性下降,表明 Chl 生物合成受阻,从而出现含量降低的现象。这部分地解释了 PER 降低叶绿素含量的原因。另一方面,Chl 的降解首先是由 Chl 酶催化的。Chl 酶催化 Chl 生成脱植基 Chl,然后脱植基 Chl 再进一步分解。Chl 酶活性的高低可反映 Chl 的降解速度。经 PER 处理的黄瓜叶中,Chl 酶活性升高,Chl 降解速度加快。这又部分地解释 PER 处理使体内 Chl 含量下降的原因。因此,PER 处理使 Chl 水平降低是其合成受阻和降解加快的综合表现。

Car 是光合作用的天线色素,起着吸收和传递光能,且可以保护 Chl 分子和光合器避免受过多激发光的损伤作用。因此,Car 也是光合作用的重要色素。本试验发现 PER 也使黄瓜的 Car 含量下降,因而将对光合作用产生不良影响。至于 PER 是通过何种机制影响 Car 含量,尚有待深入地研究和探讨。

参考文献:

- [1] 张大弟, 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] FERNANDEZ-LOPEZ J A, AIMELA L, LOPEZ-ROCA J M, et al. Iron deficiency in *Citrus limon*: Effects on photochlorophyllase synthetic pigments and chlorophyllase activity[J]. J Plant Nutr, 1991, 14(11): 1 133—1 144.
- [3] MORAN R. Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N, N-dimethyl formamide[J]. Plant Physiol, 1982 69: 1 376—1 381.
- [4] MORAN R, PORATH D. Chlorophyll determination in intact tissues using N, N-dimethyl formamide[J]. Plant Physiol, 1980 65: 478—479.
- [5] MORAN R, VERNON L P, PORATH D, et al. Developmental stages of cucumber seedlings. Kinetics of chlorophyll accumulation and other growth parameters[J]. Plant Physiol, 1990, 92: 1 075—1 080.
- [6] HAMPP R, SANKHLA N, HUMBER W. Effect of EMD-IF-5914 on chlorophyll synthesis in leaves of *Pennisetum typhoides* seedlings[J]. Physiol Plant, 1975, 33: 53—57.
- [7] PABIC C L, HOTFELT M, ROUSSAU J. Effect of 6-benzylaminopurine and potassium on δ -aminolevulinate dehydratase activity of excised cucumber cotyledons[J]. Plant Cell Physiol, 1987, 28(3): 431—437.
- [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, 27: 248—254.
- [9] GANDHI S R, KULKARNI S B, NETRAWALIM S. Comparative effects of synthetic insecticides—endosulfan, phosalone and permethrin—on *Chlamydomonas reinhardtii* algal cells[J]. Acta Microbiol Hung, 1988, 35(2): 93—99.

Effect of Permethrin on Photosynthetic Pigments and Activities of Related Enzymes 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 50—400 mg $\cdot$ L $^{-1}$ permethrin reduced the contents of total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b, and protochlorophyll in cucumber leaves by 5.55%—46.43%, 5.94%—48.87%, 4.28%—38.53%, and 4.43%—30.54%, respectively, after the seedlings were treated for 48 h. Their correlation coefficients were -0.988 7, -0.989 7, -0.983 1, and -0.992 0, respectively. After the seedlings were treated with 250 mg $\cdot$ L $^{-1}$ permethrin for 144 h, the contents of total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b, protochlorophyll and carotenoids decreased by 41.62%, 43.30%, 36.62%, 27.84% and 36.47%, respectively. When the seedlings were treated with 50—350 mg $\cdot$ L $^{-1}$ permethrin for 48 h, the activity of chlorophyllase increased by 4.72%—22.61%, but the activities of δ -aminolevulinate synthase and δ -aminolevulinate dehydratase decreased by 8.07%—31.92% and 3.30%—29.77%, respectively. The mechanism of the effect of permethrin on chlorophyll contents was discussed.

Key words: cucumber; permethrin; photosynthetic pigments; chlorophyllase; aminolevulinate synthase; aminolevulinate dehydratase

【责任编辑 柴 焰】