

硫丹对黄瓜光合色素及几种有关酶活性的影响

黄卓烈

郑东

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

摘要 用 0.1%—0.6% 的硫丹喷施黄瓜幼苗 4 d 后, 叶绿素总量、叶绿素 a、叶绿素 b、原叶绿素、类胡萝卜素含量分别下降 21.00%—38.57%、21.27%—38.69%、20.22%—38.24%、6.60%—49.24% 和 13.54%—68.85%; 叶绿素酶活性上升 16.51%—72.80%; δ -氨基乙酰丙酸 (ALA) 合酶和脱水酶活性分别下降 14.14%—44.61% 和 4.38%—40.11%。讨论了硫丹影响叶绿素含量的可能机理。

关键词 硫丹; 黄瓜; 光合色素; 叶绿素酶; ALA 合酶和脱水酶

分类号 S482.3

EFFECTS OF THIODAN ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND ON THE ACTIVITIES OF SEVERAL RELATED ENZYMES IN LEAVES OF CUCUMBER SEEDLINGS

Huang Zhuolie

(Biotechnology College, South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

Zheng Dong

(Department of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

Abstract The leaves of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings were sprayed with 0.1%—0.6% thiodan, and after 4 days the contents of total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b, protochlorophyll and carotenoids were decreased by 21.00%—38.57%, 21.27%—38.69%, 20.22%—38.24%, 6.60%—49.24% and 13.54%—68.85%, respectively. Thiodan at 0.1%—0.6% concentrations caused the promotion of chlorophyllase activity by 16.51%—72.80%, and decreased the activities of δ -aminolevulinate synthase and δ -aminolevulinate dehydratase by 14.14%—44.16% and 4.38%—40.11%, respectively. The mechanism of the effect of thiodan on chlorophyll content was discussed.

Key words Thiodan; Cucumber; Photosynthetic pigment; δ -aminolevulinate synthase and dehydratase; Chlorophyllase

硫丹是一种含有机氯的高效广谱性触杀和胃毒杀虫剂, 对多种害虫均有良好的防治效果。但是, 由于硫丹残效期长, 不仅造成土壤污染, 而且也污染水源^[1], 因而被美国环保局限

制使用^[2]。硫丹在作物上施用后对农作物的生理生化影响已有一些报道。Naides等^[3]发现,硫丹可使绿豆(*Vigna radiata*)和豇豆(*V. sinensis*)体内蛋白质含量升高,DNA、RNA含量和蛋白酶活性下降。Das等^[4]发现,使用硫丹可使水稻的呼吸速率升高。Ramachandran等^[5]报道,硫丹可强烈抑制藻类的光合作用和呼吸作用。Tadzhibaeva等^[6]也发现硫丹可抑制棉花的光合作用速率。至于硫丹是否影响光合色素的代谢则尚未见报道。本研究探讨硫丹对黄瓜叶片光合色素含量及与叶绿素代谢有关的叶绿素酶、 δ -氨基乙酰丙酸合酶和 δ -氨基乙酰丙酸脱水酶活性的影响,希望能为农业生产及环境保护提供部分理论依据。

1 材料与方 法

植物材料及其处理 将黄瓜(*Cucumis sativus*)种子播于盛有培养基质的塑料盆中,自然光照培育幼苗。硫丹为泰国产的35%乳液,使用时用水稀释到所需浓度。当幼苗长至具有完整3片真叶后,用各种浓度的硫丹喷施幼苗,喷在叶片正反两面至全湿。对照用蒸馏水喷施。处理后在规定时间内采集其第1片真叶测定。每个处理采第1真叶25片,用蒸馏水洗净,吸干,剪碎混合后分别测定各项指标。各试验重复5次。

测定方法 叶绿素a、b、叶绿素总量和原叶绿素的提取和测定用Moran等^[7,8]的方法;类胡萝卜素的提取和测定用Moran等^[9]的方法,其含量使用 A_{480} unit g^{-1} FW表示,其计算方法^[9]如下式:

$$A_{480} \text{ unit } g^{-1}FW = \frac{[(A_{480nm} - A_{510nm}) - (A_{469nm} - A_{510nm}) \times 30/41] \times V}{m}$$

式中 A_{480nm} 、 A_{510nm} 、 A_{469nm} 分别为480nm、510nm和469nm的吸光度;V为提取液的总体积(ml);m为所用样品的量(g)。叶绿素酶(EC 3.1.1.14)的提取用Fernandez-Lopez等^[10]的方法;叶绿素酶活性的测定用Holden^[11]所述的方法。 δ -氨基乙酰丙酸(ALA)合酶(EC 2.3.1.37)的提取和活性测定用Hampp等^[12]的方法。ALA脱水酶(EC 4.2.1.24)的提取用Prasad等^[13]的方法,酶活性测定用Pabic等^[14]的方法。蛋白质含量的测定用Bradford^[15]的方法。

2 结果

2.1 不同浓度硫丹对叶绿素含量的影响

用0.1%—0.6%的硫丹处理黄瓜幼苗4 d后,叶片体内的叶绿素总量、叶绿素a、叶绿素b和原叶绿素含量都受到明显的影响(图1)。在所使用的浓度范围内,随着浓度的升高,各种叶绿素含量均相应下降。叶绿素总量、叶绿素a、叶绿素b和原叶绿素含量分别下降21.00%—38.57%、21.27%—38.69%、20.22%—38.24%和6.60%—49.24%,而叶绿素a/b比值则在2.781—2.914之间波动。相关分析表明,几种叶绿素的含量变化与硫丹的浓度呈负相关。显著性测验结果,差异均达到极显著水平(表1)。

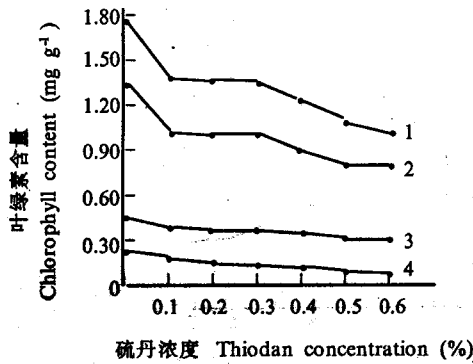


图 1 不同浓度的硫丹对黄瓜叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effect of thiodan concentrations on chlorophyll content in leaves of cucumber seedlings

1. 总叶绿素 Total chlorophyll; 2. 叶绿素 a Chlorophyll a
3. 叶绿素 b Chlorophyll b; 4. 原叶绿素 Protochlorophyll

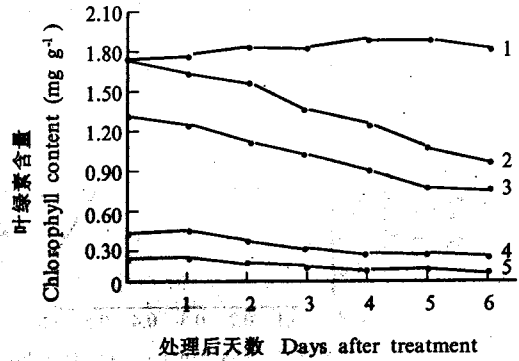


图 2 用 0.4% 硫丹处理后黄瓜叶绿素含量的变化

Fig. 2 Changes of chlorophyll contents in leaves of cucumber seedlings treated with 0.4% thiodan

1. 叶绿素总量(对照) Total chlorophyll (control); 2. 叶绿素总量 Total chlorophyll; 3. 叶绿素 a Chlorophyll a;
4. 叶绿素 b Chlorophyll b; 5. 原叶绿素 Protochlorophyll

2.2 硫丹处理后不同时间对叶绿素含量的影响

当用 0.4% 的硫丹喷施黄瓜幼苗后, 随着处理后时间的延长, 各种叶绿素含量都相应下降(图 2)。处理后 6 d, 叶绿素总量、叶绿素 a、叶绿素 b 和原叶绿素含量分别比未喷施下降了 44.45%、39.65%、40.62% 和 50.74%, 变幅较大。叶绿素 a/b 比则在 2.628—2.879 之间波动。

2.3 硫丹对类胡萝卜素含量的影响

当用 0.1%—0.6% 的硫丹喷施黄瓜幼苗后 4 d, 叶片的类胡萝卜素含量也受到明显的干扰。随着硫丹浓度的提高, 类胡萝卜素含量相应下降。至硫丹浓度达 0.6% 时, 其含量比对照下降 68.85%(图 3A)。此外, 用 0.4% 硫丹处理, 体内胡萝卜素含量也逐日下降。处理后 7 d 类胡萝卜素含量比对照下降了 47.29%(图 3B)。

2.4 硫丹对叶片几种酶类活性的影响

当用 0.1%—0.6% 的硫丹喷施黄瓜幼苗 4 d 后, 叶片内的叶绿素酶活性受到明显的刺激。随着硫丹浓度升高, 酶活性也相应升高。硫丹浓度为 0.6% 时, 酶活性比对照升高 72.80%(图 4)。与此相反, 体内的 ALA 合酶和脱水酶活性则受到明显的抑制。随着硫丹浓度升高, ALA 合酶活性相应下降。硫丹浓度为 0.6% 时, 酶活性比对照下降了 44.61%。在硫丹浓度 0.1%—0.6% 范围内, ALA 脱水酶活性比对照下降了 4.38%—40.11%(图 4)。

表 1 硫丹浓度与叶绿素含量之间的相关系数及其显著性测验
Table 1 Correlation coefficients and significance test between thiodan concentration and chlorophyll content

	相关系数 Correlation coefficient	t	t _{0.05}	t _{0.01}
叶绿素总量 Total chlorophyll	-0.9277	5.557**	2.447	3.707
叶绿素 a Chlorophyll a	-0.9251	5.447**	2.447	3.707
叶绿素 b Chlorophyll b	-0.9331	5.801**	2.447	3.707
原叶绿素 Protochlorophyll	-0.9686	8.715**	2.447	3.707

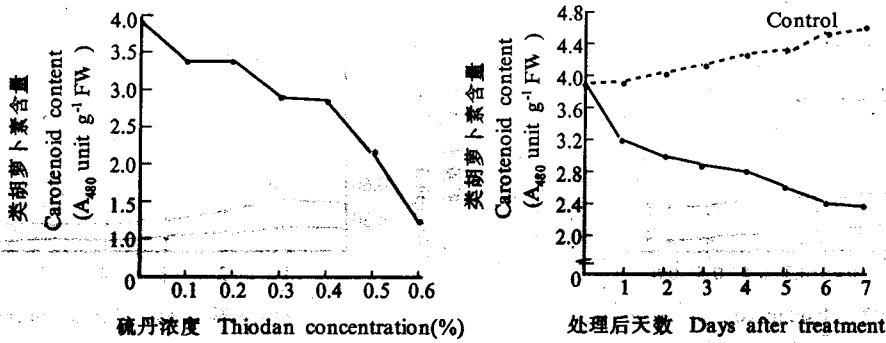


图3 硫丹对黄瓜叶片类胡萝卜素含量的影响
 Fig. 3 Effects of thiodan on carotenoid content in leaves of cucumber seedlings

3 讨论

杀虫剂硫丹使用后对作物有较强的副作用。本试验发现，硫丹在黄瓜苗上施用后，可使叶片内各种叶绿素含量下降，其详细的作用机制尚不清楚。已知叶绿素的生物合成是个复杂的过程，包含多种中间产物和多种酶促反应。其中两个重要的酶为ALA合酶和ALA脱水酶。ALA合酶催化甘氨酸和琥珀酰辅酶A缩合为ALA。而ALA脱水酶则催化ALA转化为胆色素原^[6]。因此，这两种酶活性的高低直接反映了体内叶绿素生物合成速度的大小。用硫丹处理黄瓜幼苗后，体内ALA合酶活性和ALA脱水酶活性都明显下降，表明体内叶绿素生物合成受阻，从而降低叶绿素含量。另一方面，叶绿素的降解首先是由叶绿素酶催化的。叶绿素酶催化叶绿素转变为脱植基叶绿素，然后再进一步分解^[7]。体内叶绿素酶活性的高低可直接反映叶绿素的降解速度，用硫丹处理后，黄瓜叶绿素酶活性升高，说明叶绿素降解速度加快。因此，硫丹使黄瓜叶绿素含量下降可初步归因于叶绿素合成受阻和叶绿素降解加速。

类胡萝卜素是光合作用的天线色素。它们不但能将自身吸收的光能传递给叶绿素进行光反应，而且还可减轻强光对叶绿体的破坏作用，对叶绿素分子和光合器有重要的保护作用。本研究发现，硫丹也能使黄瓜叶片类胡萝卜素含量下降，因而对光合作用也有负作用。至于硫丹如何影响类胡萝卜素尚有待于深入的研究。

参考文献

1 Sivawamy S N. Occurrence of organochlorine pesticides along the Madras coast. J Environ Biol, 1989, 10(2, suppl.):179-184

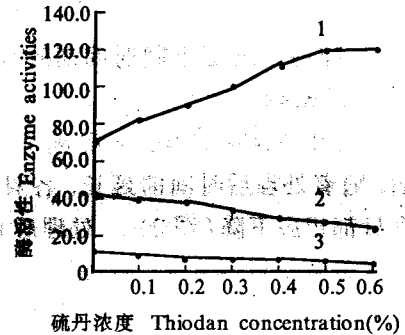


图4 硫丹对黄瓜几种酶活性的影响
 Fig. 4 Effects of thiodan on the activities of several enzymes

1. 叶绿素酶 Chlorophyllase (μg chlorophyllide g⁻¹ FW)
2. ALA脱水酶 ALA dehydratase (nmol porphobilinogen mg⁻¹ protein h⁻¹)
3. ALA合酶 ALA synthase (nmol ALA mg⁻¹ protein h⁻¹)

- 2 Anon. Pesticide use restrictions. Fed Regist, 1979, 44(6):1991-1994
- 3 Naides K R P, Mohan C V K. Impact of endosulfan on biochemical changes in two species of *Vigna*. Environ Ecol, 1987, 5(4):786-788
- 4 Das K, Chawdhury K, Pal S K. Studies on the effect of pesticide on respiration and growth of rice seedlings. Indian Agric, 1981, 25(2):135-138
- 5 Ramachandran S, Rajendran N, Nandakumar R et al. Inhibition of photosynthesis and respiration by chlorinated hydrocarbons in some marine algae. Mahasagar, 1981, 14(4):317-319
- 6 Tadzhibaeva K T, Egamberdyev A R. Effect of some pesticides on the photosynthesis rate of cotton. Izu Akad Nauk Tadzh SSR Otd Biol Nauk, 1984, (4):78-80
- 7 Moran R. Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N,N-dimethylformamide. Plant Physiol, 1982, 69:1376-1381
- 8 Moran R, Porath D. Chlorophyll determination in intact tissues using N,N-dimethylformamide. Plant Physiol, 1980, 65:478-479
- 9 Moran R, Vernon L P, Porath D et al. Developmental stages of cucumber seedlings. Kinetics of chlorophyll accumulation and other growth parameters. Plant Physiol, 1990, 92:1073-1080
- 10 Fernandez-Lopez J A, Almeida L, Lopez-Roca J M et al. Iron deficiency in *Citrus limon*: Effects on photochlorophyllase synthetic pigments and chlorophyllase activity. J Plant Nutr, 1991, 14(11):1133-1144
- 11 Holden M. The breakdown of chlorophyll by chlorophyllase. Biochem J, 1961, 78:359-364
- 12 Hampp R, Sankhla N, Humber W. Effect of EMD-IT-5914 on chlorophyll synthesis in leaves of *Pennisetum typhoides* seedlings. Physiol Plant, 1975, 33:53-57
- 13 Prasad D D K, Prasad A R K. Effect of lead and mercury on chlorophyll synthesis in mung bean seedlings. Photochemistry, 1987, 26(4):881-883
- 14 Pabic C L, Hoffelt M, Roussaux J. Effect of 6-benzylaminopurine and potassium on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity of excised cucumber cotyledons. Plant Cell Physiol, 1987, 28(3):431-437
- 15 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 1976, 27:248-254
- 16 Shemin D. δ -aminolevulinic acid dehydratase. Methods Enzymol, 1970, 17:205-211
- 17 Klein A O, Vishniac W. Activity and partial purification of chlorophyllase in aqueous systems. J Biol Chem, 1961, 236(9):2544-2547