

溴氰菊酯对黄瓜幼苗过氧化氢酶活性的影响

黄卓烈

(华南农业大学生物技术学院, 广州 510642)

摘要 用 100 mg L^{-1} 的溴氰菊酯喷施黄瓜幼苗 2 d 后, 体内过氧化氢酶活性升高 49.65%。 150 mg L^{-1} 的溴氰菊酯使体内蛋白质含量升高 33.25%, 使 DNA 和 RNA 含量分别上升 15.39% 和 11.49%。 而 500 mg L^{-1} 的溴氰菊酯却使过氧化氢酶活性降低 6.94%, 蛋白质、DNA 和 RNA 含量分别降低 10.22%、9.85% 和 16.20%。 溴氰菊酯对离体的过氧化氢酶活性无影响。 放线菌酮对溴氰菊酯影响蛋白质含量和过氧化氢酶活性有抑制作用。 初步讨论了低浓度溴氰菊酯影响过氧化氢酶活性的可能原因。

关键词 溴氰菊酯; 黄瓜; 过氧化氢酶

中图分类号 S482.3

EFFECTS OF DELTAMETHRIN ON CATALASE ACTIVITY IN CUCUMBER SEEDLINGS

Huang Zhuolie

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

Abstract Catalase activity in cucumber leaves increased by 49.65% after the seedlings were sprayed with 100 mg L^{-1} deltamethrin for 2 days. Deltamethrin of 150 mg L^{-1} increased the contents of protein, DNA and RNA by 33.25%, 15.39% and 11.49%, respectively. However, high deltamethrin concentration (500 mg L^{-1}) decreased the catalase activity by 6.94%, and decreased the contents of protein, DNA and RNA by 10.22%, 9.85% and 16.20%, respectively. No effect of deltamethrin on *in vitro* catalase activity was found. The effects of deltamethrin on protein content and catalase activity in cucumber leaves could be partially inhibited by cycloheximide. The possible mechanism of the effect of deltamethrin on catalase activity was discussed.

Key words Deltamethrin; Cucumber; Catalase

溴氰菊酯是一种拟除虫菊酯杀虫剂, 施用于农作物后, 其残效期不长^[1], 因而被认为是一种低毒高效的农用杀虫剂, 在农业生产上应用较为广泛^[2]。这种农药对农业害虫生理生化的影响及杀虫机理的研究甚多^[3,4]。但是, 在农作物上使用后是否会对农作物本身的代谢有影响, 尚未见有关报道。

过氧化氢酶 (EC 1. 11. 1. 6) 是普遍存在于植物体内的酶, 其作用是将体内代谢过程中产生的 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 , 从而避免了 H_2O_2 在体内积累对机体造成的毒害。因此, 过氧化氢酶活性高低是与植物体抗性有关的生理指标。本研究探讨在黄瓜幼苗上施用溴氰菊酯对体内过氧化氢酶活性的影响, 以阐明溴氰菊酯对植物的可能作用。

1 材料和方法

材料 黄瓜 (*Cucumis sativus*) 幼苗盆栽, 自然光照。当幼苗长至第3片真叶全展开后, 用不同浓度 ($0-500 \text{ mg L}^{-1}$, 农业生产上使用的浓度在 $100-700 \text{ mg L}^{-1}$) 的溴氰菊酯喷施幼苗, 至叶片正反两面全湿为度。对照则用蒸馏水喷至全湿。喷施后在不同时间内取幼苗的第1片真叶为测定材料。每种处理采第1真叶25片, 用蒸馏水洗净吸干, 剪碎混合后取定量碎叶测定。

测定方法 过氧化氢酶的提取用 Powles 等^[5]的方法。用于体外试验的过氧化氢酶的提纯用 Esaka 等^[6]的方法进行部分纯化。过氧化氢酶活性的测定用 Biswas 等^[7]的方法。酶活性用 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ 表示。可溶性蛋白质含量用 Bradford^[8]的方法测定。去氧核糖核酸 (DNA) 的提取用 Chen^[9]的方法; DNA 含量测定用 Giles 等^[10]的方法。核糖核酸 (RNA) 用 Stern^[11]的方法提取。RNA 含量用康德拉等^[12]的方法测定。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的溴氰菊酯对叶片过氧化氢酶活性的影响

用各种浓度的溴氰菊酯喷施黄瓜幼苗2 d后测定体内过氧化氢酶活性的结果(表1)表明, 溴氰菊酯明显地影响叶片过氧化氢酶活性。在 100 mg L^{-1} 以下的较低浓度范围内, 随着浓度增高, 过氧化氢酶活性也升高。以 100 mg L^{-1} 处理时, 酶活性比对照升高 49.65%。当浓度超过 200 mg L^{-1} 后, 过氧化氢酶活性逐渐下降, 浓度升至 500 mg L^{-1} 时, 其活性比对照下降 6.94%。用邓肯氏新复极差进行多重比较检验结果表明, 部分处理间的差异达显著和极显著的水平(表1)。

表1 不同浓度的溴氰菊酯对黄瓜叶片过氧化氢酶活性的影响

Table 1 Effect of different concentrations of deltamethrin on catalase activity in cucumber leaves

	溴氰菊酯浓度 Deltamethrin concentrations (mg L^{-1})							
	0	20	50	100	200	300	400	500
过氧化氢酶活性 Catalase activity ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$)	2.88	3.41	3.81	4.31	3.91	3.26	3.08	2.68
邓肯氏检验结果 Duncan's test result*	d BC	c B	b AB	a A	b AB	cd B	cd BC	d C
相对百分率 Relative percentage (%)	100	118.40	132.29	149.65	135.76	113.19	106.94	93.06

* 邓肯氏检验结果, 小写字母的 $p=0.05$, 大写字母的 $p=0.01$. Small letter, $p=0.05$; capital letter, $p=0.01$

2.2 溴氰菊酯处理后不同时间对过氧化氢酶活性的影响

当用 100 mg L^{-1} 的溴氰菊酯处理黄瓜叶片后, 叶片过氧化氢酶活性的变化见图1。在处理后的2 d内, 叶片过氧化氢酶活性较大幅度地升高, 以后逐渐趋于平稳。处理8 d时, 酶活性比对照高 58.45%。

2.3 溴氰菊酯对黄瓜叶片蛋白质含量的影响

当用各种浓度的溴氰菊酯喷施黄瓜幼苗2 d后, 体内蛋白质含量也受到明显的影响。在 $10-150 \text{ mg L}^{-1}$ 范围内, 蛋白质含量随溴氰菊酯浓度升高而升高。溴氰菊酯浓度为 150 mg L^{-1}

时, 蛋白质含量比对照升高 33.25%。而高浓度的溴氰菊酯使体内蛋白质含量下降。如溴氰菊酯浓度为 500 mg L⁻¹, 蛋白质含量比对照下降 10.22%(图 2)。用邓肯氏新复极差检验结果表明, 部分处理之间的差异达到显著和极显著水平。

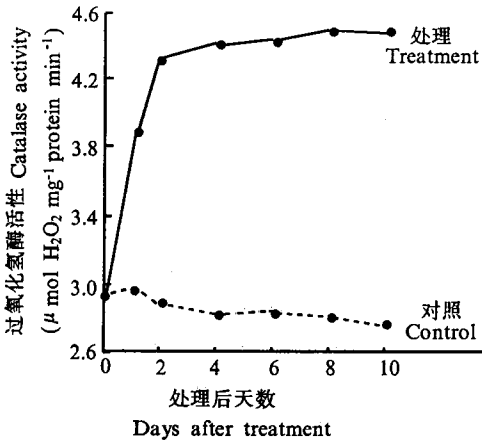


图 1 100 mg L⁻¹ 的溴氰菊酯处理后黄瓜叶片过氧化氢酶活性的变化

Fig. 1 Changes of catalase activity in cucumber leaves after treatment with 100 mg L⁻¹ deltamethrin

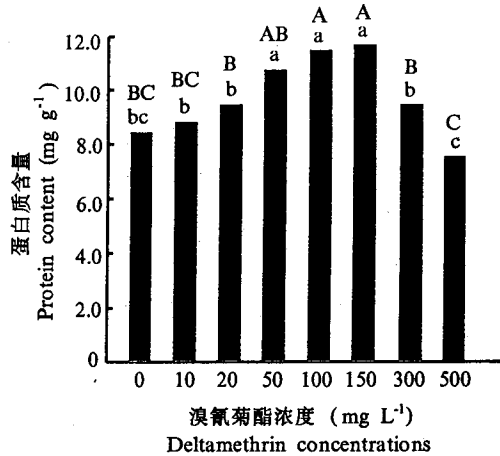


图 2 溴氰菊酯对黄瓜叶片蛋白质含量的影响

Fig. 2 Effect of deltamethrin on protein content in cucumber leaves
图中字母为邓肯氏检验结果, 小写字母的 p=0.05, 大写字母的 p=0.01. Duncan's test: small letter, p=0.05; capital letter, p=0.01

此外, 当用 150 mg L⁻¹ 的溴氰菊酯处理后在不同时间蛋白质含量的变化见图 3。在处理后 4 d 内, 蛋白质含量上升幅度较大, 以后逐渐趋于平缓。

2.4 溴氰菊酯对离体过氧化氢酶活性的影响

为了验证低浓度的溴氰菊酯对体内过氧化氢酶活性的促进是直接的激活还是间接的促进, 本试验将过氧化氢酶提取出来后, 纯化 37.34 倍。然后用溴氰菊酯处理其酶促反应系统。结果(图 4)表明, 溴氰菊酯对过氧化氢酶活性没有直接的刺激作用。因而可以推测, 溴氰菊酯对黄瓜叶片体内过氧化氢酶活性的促进不是直接激活的结果, 而是通过某些途径间接影响过氧化氢酶活性的。

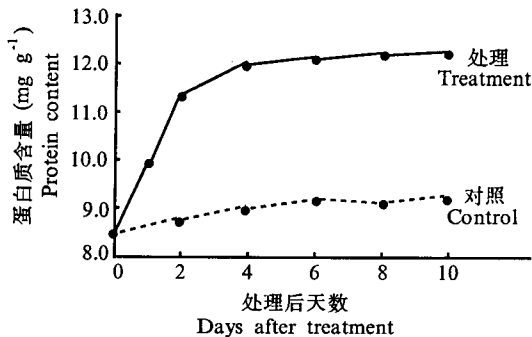


图 3 150 mg L⁻¹ 溴氰菊酯处理后黄瓜叶片蛋白质含量的变化
Fig. 3 Changes of protein content in cucumber leaves treated with 150 mg L⁻¹ deltamethrin

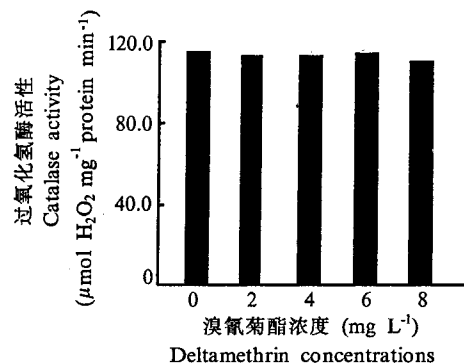


图 4 溴氰菊酯对离体过氧化氢酶活性的影响
Fig. 4 Effect of deltamethrin on *in vitro* catalase activity

2.5 溴氰菊酯对黄瓜核酸含量的影响

当分别用 50、150、500 mg L⁻¹ 的溴氰菊酯处理黄瓜幼苗 1 d 后进行测定, 发现体内的核酸含量受到明显的影响(图 5)。在 150 mg L⁻¹ 以下的低浓度时, 体内的 DNA 和 RNA 含量升高。而当溴氰菊酯浓度升至 500 mg L⁻¹ 时, DNA、RNA 含量下降。溴氰菊酯对核酸含量影响的方差分析结果见表 2。各浓度之间的影响效果均达到极显著水平。

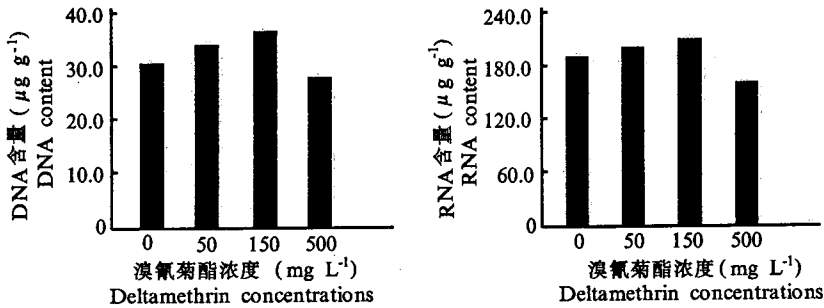


图 5 溴氰菊酯对黄瓜叶片 DNA 和 RNA 含量的影响

Fig. 5 Effects of deltamethrin on DNA and RNA contents in cucumber leaves

表 2 溴氰菊酯影响黄瓜叶片 DNA 和 RNA 含量的方差分析表

Table 2 Variance analysis for the changes of DNA and RNA contents affected by deltamethrin treatment

	FD		SS		MS		F	F _{0.05}	F _{0.01}
	浓度 Conc.	误差 Error	浓度 Conc.	误差 Error	浓度 Conc.	误差 Error			
DNA	3	12	133.02	39.09	44.34	3.26	13.61**	3.49	5.95
RNA	3	12	6394.51	2416.45	2131.50	201.37	10.58**	3.49	5.95

2.6 放线菌酮对溴氰菊酯影响蛋白质含量和过氧化氢酶活性的抑制

放线菌酮是蛋白质合成的抑制剂^[13]。本试验用 100 mg L⁻¹ 的溴氰菊酯加上各种浓度的放线菌酮共同处理黄瓜幼苗 2 d 后, 结果(表 3)表明, 随着放线菌酮浓度升高, 体内蛋白质含量相应下降。放线菌酮为 0.6 mg L⁻¹ 时, 蛋白质含量比对照下降 24.07%, 相应地, 体内过氧化氢酶活性也受到放线菌酮的影响, 比对照下降 27.06%。

表 3 放线菌酮对溴氰菊酯影响黄瓜叶片蛋白质含量和过氧化氢酶活性的抑制

Table 3 Inhibitory effect of cycloheximide in combination with deltamethrin on protein content and catalase activity in cucumber leaves

	100 mg L ⁻¹ 溴氰菊酯 + 放线菌酮浓度 (mg L ⁻¹) 100 mg L ⁻¹ deltamethrin + cycloheximide (mg L ⁻¹)			
	0	0.2	0.4	0.6
蛋白质含量 Protein content (mg g ⁻¹)	10.97	10.11	9.04	8.33
相对百分率 Relative percentage (%)	100	92.16	82.41	75.93
过氧化氢酶活性 Catalase activity (µmol H ₂ O ₂ mg ⁻¹ protein min ⁻¹)	4.25	4.17	3.86	3.10
相对百分率 Relative percentage (%)	100	98.18	90.82	72.94

3 讨论

Sekun^[14]曾报道, 用溴氰菊酯处理冬小麦时, 体内单糖和蛋白质含量升高, 而双糖含量却下降。从本试验结果看, 在农作物上使用溴氰菊酯, 确实会影响作物体内的代谢。低浓度的溴氰菊酯处理可使黄瓜叶内的过氧化氢酶活性升高。但在体外处理时却对过氧化氢酶无刺激作用。说明溴氰菊酯对体内过氧化氢酶活性的促进是间接由其它途径引起的。与此同时, 低浓度的溴氰菊酯也能增加黄瓜叶片的蛋白质、DNA、RNA 含量。而当用放线菌酮处理, 蛋白质合成受到抑制, 由溴氰菊酯促进的过氧化氢酶活性升高也相应受到抑制。这些现象似乎说明, 低浓度的溴氰菊酯对体内过氧化氢酶活性的促进可能与重新合成此酶分子有关。使用溴氰菊酯后, 首先提高 DNA 含量, 进而促进 RNA 合成和蛋白质合成, 从而导致过氧化氢酶分子数量增加, 最终表现酶活性的上升。但详细而确切的机理尚有待更深入的研究才能阐明。高浓度溴氰菊酯抑制酶活性的机理的揭示也需要详细的试验研究。

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. 中国环境科学, 1990, 10(4): 277-284
- 2 Hassan S A et al. Results of the third joint pesticide testing program by the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". J Appl Entomol, 1987, 103(1):92-107
- 3 Vernon R S, Mackenzie J R. Evaluation of foliar sprays against the tuber fleabeetle, *Epitrix tuberis* Gentner (Coleoptera: Chrysomelidae), on potato. Can Entomol, 1991, 123(2):321-331
- 4 Pophaly D J, Marwaha K K. Evaluation of some insecticides as foliar treatment for the control of shoot fly, *Atherigona* spp. on spring sown maize. J Entomol Res, 1987, 11(2):142-144
- 5 Powles S B, Cornic G. Mechanism of paraquat resistance in *Hordeum glaucum*. I. Studies with isolated organelles and enzymes. Aust J Plant Physiol, 1987, 14:81-89
- 6 Esaka M, Asahi T. Purification and properties of catalase from sweet potato root microbodies. Plant Cell Physiol, 1982, 23(2):315-322
- 7 Biswas A K, Choudhuri M A. Differential behaviour of flag leaf of intact rice plant during ageing. Biochem Physiol Pflanzen, 1978, 173:220-240
- 8 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye bindings. Anal Biochem, 1976, 72:248-254
- 9 Chen H R. Deoxyribonucleic acid of mung bean embryonic axes. Biochim Biophys Acta, 1971, 240:195-202
- 10 Giles K W, Myers A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. Nature, 1965, 206:93
- 11 Stern H. Isolation and purification of plant nucleic acids from whole tissues and from isolated nuclei. Methods Enzymol, 1968, 12 (Part B):100-112
- 12 康德拉, 阿培尔著. 李申德译. 分子生物学方法. 北京: 科学出版社, 1979, 94-96
- 13 Pestka S. The use of inhibitors in studies of protein synthesis. Methods Enzymol, 1974, 30 (Part F):261-282
- 14 Sekun N P. Effect of the combined application of agrochemicals on biochemical parameters of winter wheat. Agrokhimiya, 1990, (4):106-110