

3 种常用杀虫剂胁迫对小麦防御相关酶活性的影响

吕超 沙品洁 李秀霞 杨文玲 仲丽 史雪岩* 高希武

(中国农业大学 农业与生物技术学院, 北京 100193)

摘要 为明确常用杀虫剂对小麦防御性的影响,考察了吡虫啉、灭多威和氧乐果处理对小麦苗3种防御相关酶活性的影响。分别使用杀虫剂的田间推荐浓度、高于和低于其推荐浓度1倍的质量浓度3个处理,考察了吡虫啉、灭多威和氧乐果营养液内吸处理小麦苗后5 d内,小麦苗中苯丙氨酸解氨酶(PAL)、谷胱甘肽硫转移酶(GSTs)和脂氧合酶(LOX)活性的变化。结果表明:17.5和35.0 mg/L吡虫啉处理小麦苗后6 h时,小麦苗中PAL均受到抑制,活性显著降低,处理后12 h时,PAL活性与对照相比显著上升,分别上升了38.9%和40.0%;100、200和400 mg/L灭多威处理小麦苗后12 h时,小麦苗中PAL活性显著升高。250、500和1 000 mg/L氧乐果处理小麦苗后24 h内,小麦苗中PAL活性呈现出先升高再降低的动态过程。而500和1 000 mg/L氧乐果处理小麦苗后48 h内,小麦苗中GSTs活性呈现出先降低再升高的动态过程。在3种杀虫剂的胁迫下,小麦苗PAL、GSTs及LOX活性均发生了随着时间而变化的波动,随着处理后时间的继续延长,最后小麦苗3种防御酶的活性又恢复至不受影响的正常状态。一定浓度的吡虫啉、灭多威和氧乐果处理小麦苗,会对小麦苗中PAL、GSTs和LOX的活性及其相关防御性产生一定影响。3种杀虫剂对小麦苗中PAL、GSTs和LOX活性的影响,不仅与杀虫药剂本身的性质有关,还具有一定的剂量效应与时间效应。

关键词 小麦; 吡虫啉; 灭多威; 氧乐果; 防御相关酶

中图分类号 S 482.3

文章编号 1007-4333(2012)01-0065-07

文献标志码 A

Effects of three kinds of pesticides on activities of defense-related enzymes in wheat seedlings

LÜ Chao, SHA Pin-jie, LI Xiu-xia, YANG Wen-ling, ZHONG Li,
SHI Xue-yan*, GAO Xi-wu

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract Pesticides affect the physiology and biochemistry of plants, such as photosynthesis, nutrient substance and so on. In order to explore the effects of pesticides on the defense of wheat to pests and pathogen, the activities changes of the three defense-related enzymes of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), glutathione S-transferases (GSTs) and lipoxygenase (LOX), were examined in wheat seedlings during 5 days after treated with imidacloprid, methomyl and omethoate respectively. The results showed that the activities of PAL decreased significantly at 6 h after treatment with 17.5 and 35.0 mg/L imidacloprid respectively, while increased by 38.9% and 40.0% respectively at 12 h after the treatment compared to the untreated control. When treated with 100, 200 and 400 mg/L of methomyl, the activities of PAL in wheat seedlings increased markedly at 12 h. During 24 h after treated with 250, 500 and 1 000 mg/L omethoate, the activities of PAL experienced a significant raising-descending process. In contrast, the activities of GSTs had a significant descending-raising process during 48 h after treated by 500 and 1 000 mg/L omethoate. Under the stresses of three pesticides, the activities of PAL, GSTs and LOX in wheat seedlings showed variation with time. They finally

收稿日期: 2011-07-06

基金项目: 国家自然科学基金(30771426); 国际(地区)合作与交流项目(30911140107)

第一作者: 吕超, 硕士研究生, E-mail: shevchenko113@126.com

通讯作者: 史雪岩, 副教授, 博士, 主要从事农药环境毒理研究, E-mail: shixueyan@sohu.com

returned to normal conditions. The activities of PAL, GSTs and LOX in wheat seedlings treated with insecticides depended not only on the types of insecticides, but the concentration of insecticides and the duration time of treatment as well.

Key words wheat; imidacloprid; methomyl; omethoate; defense related enzymes

植物在生长过程中,为抵御干旱、盐碱、低温和环境污染等理化逆境以及病虫杂草等生物逆境的胁迫,会进行多种机制的防御^[1-6]。其中植物体内的多种防御相关酶在其对逆境的防御中发挥了重要作用,如苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)是植物苯丙烷途径的关键酶和限速酶,与植物的抗病性直接相关^[7]。植物受病菌侵染后,通常体内 PAL 活性有所提高,同时伴随木质素和绿原酸等抗菌物质合成的增加,在植物抗病过程中起着化学屏障作用。谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)是一种球状二聚体蛋白,能催化还原型谷胱甘肽的巯基与多种亲电和亲脂底物的结合,生成水溶性的产物,从而清除外界毒素以及内源有毒代谢物的危害,在植物体抵御外源物质伤害及对多种逆境的抗性中起到重要的作用^[8]。脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)是一种含有非血红素离子的双加氧酶^[9],是植物合成愈创激素、愈创酸和茉莉酮酸等产物的限速酶,这些产物在植物抗病害中具有重要作用。

化学农药作为防治有害生物的一种有效手段,在作物生产中发挥着重要作用,目前,已有较多研究探讨了农药对病虫害的影响,但是对于农药使用中,农药会与非靶标作物接触,并对作物的生理生化产生的影响等研究还相对较少^[10]。已有的研究表明,农药作为一种外在的胁迫因素,其使用会对植物的光合作用、营养物质以及次生代谢等生理生化过程产生一定的影响。房峰等^[11]发现,吡虫啉·戊唑醇种衣剂(药种比为1:100)处理山农饲玉7号后,幼苗期株高、初生根长和鲜重与对照相比显著升高。农药使用对植物防御相关酶的影响也引起了研究者的关注。Shirashyad等^[12]发现,经磷胺处理后,菜豆和洋葱体内苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性升高。仪美芹等^[13]发现,吡虫啉使用后增加了番茄叶片和根系的过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性。可见,农药使用对植物防御相关酶产生了一定的影响。

小麦是世界第二大粮食作物,杀虫剂在小麦害虫防治中发挥了重要作用。常规防治麦蚜的方法为

喷雾法,不仅费工、费时,污染环境,而且直接杀伤天敌,破坏生态平衡,增加防治次数。选择高效、低毒、低残留、残效期长的杀虫剂和简单易行的施药方法是植保工作者和农民所需。刘爱芝等^[14]发现用吡虫啉拌种可有效地控制小麦全生育期蚜虫危害,对天敌安全,增产作用非常明显。目前,吡虫啉作为小麦种衣剂已广泛应用。

内吸杀虫剂作为种衣剂,不仅可以有效的保护作物免受苗期害虫的危害,还可以进入作物体内,对作物的生长发育等产生影响,如吡虫啉种衣剂对小麦苗的生长产生了促进作用,吡虫啉拌种处理的小麦苗高而壮,叶宽而深绿,根系发达,显著优于不拌种处理^[15]。

内吸杀虫剂进入作物体内后,对作物防御性产生的影响目前还未见报道。本研究针对3种内吸杀虫剂吡虫啉、灭多威和氧乐果,考察了其对小麦防御相关酶活性及其相关防御性的影响。主要研究了吡虫啉、灭多威和氧乐果处理对小麦苗防御相关酶——苯丙氨酸解氨酶(PAL)、谷胱甘肽硫转移酶(GSTs)和脂氧合酶(LOX)活性的影响,为明确农药使用对小麦防御性的影响,有效利用农药进行病虫害防治,协调化学防治与小麦抗虫性,提供了基础的研究数据。

1 材料与方法

1.1 材料

小麦品种为济麦20。

试验药剂:质量分数10%的灭多威可湿性粉剂(methomyl,美国杜邦公司);40%体积分数的氧乐果乳油(omethoate,河北新兴化工有限公司);70%质量分数的艾美乐水分散颗粒剂(吡虫啉,imidacloprid,德国拜耳公司);100、200和400 mg/L的灭多威,250、500和1 000 mg/L的氧乐果及17.5、35和70 mg/L的吡虫啉是通过将一定量的10%灭多威可湿性粉剂,40%氧乐果乳油及70%艾美乐水分散颗粒剂分别溶于适量植物营养液和适量清水中获得。聚乙烯吡咯烷酮(PVPP,北京欣经生物技术有限公司);乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂,

北京化工厂);考马斯亮蓝 G-250(Fluka 公司进口,上海化学试剂公司分装);牛血清白蛋白(BSA,南京生兴生物公司);L-苯丙氨酸(L-phenylalanin,国药集团化学试剂有限公司);反式肉桂酸标准品(trans-Cinnamic acid,上海贺宝化工有限公司);甲醇(色谱纯,Fisher 公司);重蒸水;还原型谷胱甘肽(GSH, Sigma 公司);1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB, Sigma 公司);亚油酸(Sigma 公司)。

实验仪器:高效液相色谱仪(美国安捷伦 1100 型,Agilent 公司);紫外分光光度计(日本岛津 UV 2550 型,Shimadzu 公司)。

1.2 方法

1.2.1 小麦幼苗的培养及处理

1)小麦幼苗的培养。清水浸小麦种子 24 h 后,除去不完整的种子。将普通滤纸剪成直径大约为 9 cm 的圆片平铺于塑料培养皿中,加入 10 mL 清水。将浸泡后的种子均匀平铺于培养皿中(100 粒/皿),待其萌发后,在光照培养箱内培养 4~5 d 供试^[16]。

2)小麦幼苗的处理。分别采用含有效成分 17.5、35.0 和 70.0 mg/L 吡虫啉,100、200 和 400 mg/L 灭多威,250、500 和 1 000 mg/L 氧乐果 Hoagland 营养液处理小麦幼苗(分别用田茬推荐浓度的 1/2、推荐浓度及推荐浓度的 1 倍对小麦苗进行处理)。将配制好的一定浓度的药剂营养液加入到育有小麦的培养皿内,每皿 10 mL,对照组每皿加入 10 mL 营养液。于加药处理后 6、12、24、48、72 和 120 h 分别取样测定。用加入等量 Hoagland 营养液的小麦作对照,设 3 次重复。在小麦生长和处理过程中均用营养液培养。

1.2.2 酶液提取

1)苯丙氨酸解氨酶酶液提取方法。参照 Qin Qiuju^[17]的方法。取小麦植株(去根)1 g 在液氮中研磨成粉,加 0.1 g PVPP 和 4 mL 0.05 mol/L pH 8.8 的硼酸缓冲液(含 20 mmol/L β -巯基乙醇和 1 mmol/L 苯甲基磺酰氟),10 000g (4 °C)离心 30 min,取上清液作为酶液待测。

2)脂氧合酶和谷胱甘肽硫转移酶酶液提取方法。参照 Pamela 等^[18]的方法。取小麦植株(去根)1 g 在液氮中研磨,加 0.1 g PVPP 和 3 mL 0.05 mol/L pH 7.5 的磷酸缓冲液(含 0.1 mmol/L EDTA- Na_2),10 000g (4 °C)离心 30 min,取上清液作为酶液待测。

1.2.3 酶活性测定

1)苯丙氨酸解氨酶酶活性测定。参照 Qin Qiuju^[17]的方法,稍加改进。3 mL 反应体系含 1.7 mL 0.05 mol/L pH 8.8 的硼酸缓冲液,0.02 mol/L 苯丙氨酸 1 和 0.3 mL 酶液。30 °C 恒温水浴中反应 1 h,加入 100 μ L 6 mol/L 的盐酸终止反应。参照 M. L. L. Ferrarese 等^[19]的方法,稍加改进,用 HPLC 法测定反应液中反式肉桂酸含量。

液相色谱条件:色谱柱为 Agilent eclipse XDB-C18,4.6 mm(ID)×150 mm(5 μ m);检测器:二极管阵列检测器(DAD);柱温为 30 °C;波长为 275 nm;流速为 0.5 mL/min;进样量为 20 μ L。流动相组成为甲醇;水(含 0.15%乙酸)比例为 70:30。

验证 3 次重复,每次重复平行测定 3 次。

2)谷胱甘肽硫转移酶比活力测定。参照 Gerard 等^[20]方法,稍加改进。反应体系含 0.05 mol/L pH 7.5 磷酸缓冲液,1 mmol/L GSH,1 mmol/L CDNB 和 120 μ L 酶液。加入酶液后于 340 nm($\epsilon=9.6$ L/(mmol·cm))波长处,测定 2 min 内的吸光值变化。

3)脂氧合酶比活力测定。参照 Qin Qiuju^[17]的方法,稍加改进。反应缓冲液为 pH 3.5 的甘氨酸-盐酸缓冲液。底物配制和活性测定参考 Axelord 等^[21]方法。(亚油酸钠配制方法:称取 70 mg 亚油酸,与等质量的吐温 20 混合,加入 4 mL 无氧蒸馏水并混匀避免产生气泡。逐滴加入 0.5 mol/L 的氢氧化钠直至溶液变为澄清,定容至 25 mL,分装保存于-80 °C。)反应体系包括 pH 3.5 的甘氨酸-盐酸缓冲液 950 μ L,亚油酸钠 50 μ L,加入稀释 10 倍的酶液 100 μ L 后,于波长 234 nm($\epsilon=25$ 000 L/(mmol·cm))处,用时间驱动程序监测其吸光值在 2 min 内的变化。

1.2.4 蛋白含量测定

参照 Bradford^[22]考马斯亮蓝 G-250 方法。以牛血清白蛋白作标准曲线,计算酶液中蛋白质含量。

1.2.5 数据统计方法

计算所得酶活性值用 GraphPad InStat 3.00 数据处理软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 药剂处理对小麦 PAL 活性的影响

考察用吡虫啉、灭多威和氧乐果处理小麦苗后 5 d 内,对小麦苗 PAL 活性的影响,结果见表 1。

表1 吡虫啉、灭多威和氧乐果处理对小麦苗 PAL 活性的影响

Table 1 Effects of imidacloprid, methomyl and omethoate on the activities of PAL in wheat seedlings

测定 时间/h	CK	$\mu\text{g}/(\text{min} \cdot \text{mg})$								
		吡虫啉质量浓度/(mg/L)			灭多威质量浓度/(mg/L)			氧乐果质量浓度/(mg/L)		
		17.5	35.0	70.0	100	200	400	250	500	1 000
6	0.103± 0.005	0.083± 0.003*	0.082± 0.007*	0.094± 0.003	0.097± 0.004	0.088± 0.001	0.078± 0.006*	0.210± 0.005*	0.215± 0.028*	0.202± 0.013*
	12	0.090± 0.003	0.125± 0.006*	0.126± 0.010*	0.116± 0.008	0.134± 0.007*	0.132± 0.003*	0.136± 0.002*	0.116± 0.012	0.113± 0.005
24		0.095± 0.001	0.100± 0.006	0.098± 0.007	0.095± 0.006	0.094± 0.002	0.090± 0.005	0.108± 0.023	0.078± 0.002*	0.074± 0.002*
	48	0.096± 0.006	0.088± 0.011	0.105± 0.004	0.105± 0.008	0.110± 0.009	0.104± 0.003	0.112± 0.003	0.083± 0.009	0.091± 0.002
72		0.105± 0.008	0.123± 0.010	0.125± 0.008	0.101± 0.005	0.118± 0.009	0.153± 0.024	0.131± 0.006	0.120± 0.007	0.109± 0.005
	120	0.073± 0.008	0.066± 0.004	0.057± 0.009	0.066± 0.010	0.053± 0.003	0.072± 0.007	0.068± 0.033	0.091± 0.007	0.065± 0.010

注: *表示 t -检验差异显著($P < 0.05$); **表示 t -检验差异极显著($P < 0.01$)。下同。

17.5、35.0 和 70.0 mg/L 吡虫啉分别处理小麦幼苗,在处理后 6 h 时,17.5 和 35.0 mg/L 吡虫啉处理组小麦苗中 PAL 活性显著降低;处理后 12 h,17.5 和 35.0 mg/L 浓度吡虫啉处理组小麦 PAL 活性显著升高,与对照相比分别升高了 38.9% 和 40.0%。随着处理后时间延长至 24、48 和 72 以及 120 h,17.5 和 35.0 mg/L 吡虫啉处理对小麦 PAL 活性的影响有所减弱,小麦苗 PAL 活性与对照相比差异均不显著。在处理后 5 d 内,70.0 mg/L 吡虫啉未对小麦 PAL 活性产生显著影响。

100、200 和 400 mg/L 灭多威分别处理小麦幼苗,在处理后 6 h,400 mg/L 灭多威处理的小麦苗中 PAL 的活性比对照降低了 24.3%。而 3 种浓度灭多威处理小麦苗后 12 h,小麦 PAL 活性均显著升高。灭多威其余处理质量浓度及时间未对小麦苗 PAL 产生显著影响。

250、500 和 1 000 mg/L 的氧乐果分别处理小麦幼苗,在处理后 6 h,小麦苗中 PAL 活性与对照相比均显著升高;在处理后 12 h,3 个处理的小麦苗 PAL 活性未产生显著变化;在处理后 24 h,小麦苗中 PAL 活性均显著降低。随着处理后时间延长至

48、72 和 120 h,处理组小麦苗中 PAL 活性与对照相比差异均不显著。

3 种药剂处理对小麦苗 PAL 活性影响的结果表明,小麦苗 PAL 活性的变化与药剂本身的性质有关,并具有一定的剂量与时间效应。

2.2 药剂处理对小麦 GSTs 活性的影响

考察用吡虫啉、灭多威和氧乐果处理小麦苗后 5 d 内,对小麦苗 GSTs 活性的影响,结果见表 2。

500 和 1 000 mg/L 氧乐果分别处理小麦幼苗,在处理后 12 以及 24 h,小麦苗中 GSTs 活性与对照相比显著降低;在处理后 48 h,500 和 1 000 mg/L 氧乐果处理的小麦苗中 GSTs 活性显著升高。随着处理后时间的继续延长,处理组小麦苗中 GSTs 活性未发生显著变化。

3 种质量浓度的吡虫啉和灭多威处理小麦苗,在处理后 120 h 内,小麦 GSTs 活性与对照相比,均无明显变化。

2.3 药剂处理对小麦 LOX 活性的影响

用吡虫啉、灭多威和氧乐果处理小麦苗,在处理后 5 d 内,考察对小麦苗 LOX 活性的影响,结果见表 3。

表 2 吡虫啉、灭多威和氧乐果处理对小麦苗 GSTs 活性的影响

Table 2 Effects of imidacloprid, methomyl and omethoate on the activities of GSTs in wheat seedlings

mmol/(min · mg)

测定 时间/h	CK	吡虫啉质量浓度/(mg/L)			灭多威质量浓度/(mg/L)			氧乐果质量浓度/(mg/L)		
		17.5	35.0	70.0	100	200	400	250	500	1 000
		6	0.410± 0.040	0.504± 0.065	0.527± 0.062	0.477± 0.083	0.511± 0.037	0.442± 0.003	0.490± 0.033	0.433± 0.017
12	0.589± 0.069	0.652± 0.059	0.723± 0.031	0.500± 0.039	0.572± 0.087	0.514± 0.014	0.455± 0.027	0.468± 0.026	0.369± 0.046*	0.324± 0.055*
24	0.667± 0.013	0.639± 0.054	0.771± 0.090	0.694± 0.040	0.775± 0.080	0.871± 0.102	0.831± 0.057	0.590± 0.063	0.407± 0.032*	0.454± 0.036*
48	0.518± 0.017	0.494± 0.034	0.577± 0.046	0.547± 0.028	0.747± 0.017	0.775± 0.121	0.776± 0.040	0.601± 0.023	0.690± 0.028*	0.737± 0.021*
72	0.536± 0.023	0.542± 0.007	0.595± 0.013	0.578± 0.027	0.636± 0.053	0.641± 0.059	0.623± 0.043	0.690± 0.048	0.682± 0.031	0.728± 0.078
120	0.638± 0.038	0.645± 0.052	0.573± 0.036	0.654± 0.010	0.622± 0.015	0.644± 0.020	0.615± 0.036	0.593± 0.012	0.379± 0.011	0.597± 0.029

表 3 吡虫啉、灭多威和氧乐果处理对小麦苗 LOX 活性的影响

Table 3 Effects of imidacloprid, methomyl and omethoate on the activities of LOX in wheat seedlings

mmol/(min · mg)

测定 时间/h	CK	吡虫啉质量浓度/(mg/L)			灭多威质量浓度/(mg/L)			氧乐果质量浓度/(mg/L)		
		17.5	35.0	70.0	100	200	400	250	500	1 000
		6	1.672± 0.314	1.740± 0.160	1.738± 0.256	1.749± 0.281	1.847± 0.177	1.623± 0.063	1.946± 0.203	1.404± 0.061
12	2.027± 0.128	1.948± 0.298	2.271± 0.305	1.147± 0.096	1.491± 0.295	2.115± 0.151	1.578± 0.272	2.176± 0.220	1.261± 0.115*	1.122± 0.195*
24	1.219± 0.115	1.280± 0.204	1.102± 0.052	1.358± 0.080	1.217± 0.135	1.339± 0.070	1.110± 0.139	1.343± 0.067	1.141± 0.049	0.897± 0.053*
48	1.282± 0.105	1.262± 0.091	1.218± 0.082	1.334± 0.081	1.344± 0.070	1.296± 0.036	1.490± 0.264	1.131± 0.103	1.084± 0.122	1.148± 0.054
72	1.692± 0.233	1.668± 0.269	1.357± 0.165	1.402± 0.061	1.554± 0.252	1.343± 0.139	1.318± 0.119	1.295± 0.056	1.298± 0.073	1.330± 0.158
120	1.498± 0.058	1.227± 0.106	1.285± 0.196	1.440± 0.121	1.478± 0.141	1.557± 0.175	1.343± 0.076	1.526± 0.225	1.167± 0.033	1.453± 0.136

500 和 1 000 mg/L 氧乐果分别处理小麦幼苗，在处理 12 和 24 h，小麦苗中 LOX 活性与对照相比均显著降低，其中在处理 24 h，1 000 mg/L 氧乐果处理的小麦苗中 PAL 活性与对照相比下降

了 26.4%。随着处理后时间的继续延长，各处理组小麦苗中 LOX 活性与对照相比差异均不显著。

3 种质量浓度的吡虫啉和灭多威处理小麦苗，在处理 120 h 内，小麦 LOX 活性与对照相比，均

无明显变化。

3 讨论

3.1 氧乐果对小麦 PAL、LOX 和 GSTs 活性的影响

表 1~3 结果表明:氧乐果处理对小麦苗中 3 种防御相关酶——PAL、LOX 和 GSTs 活性的影响,显示出了随时间而变化的动态影响效应。3 种浓度氧乐果(250、500 和 1 000 mg/L)处理小麦苗,在处理 6 h,均诱导了小麦 PAL 活性显著升高;在处理 24 h,小麦 PAL 活性又被显著抑制;随着处理后时间继续延长至 48、72 及 120 h,氧乐果对小麦苗中 PAL 活性的影响不再显著。

与氧乐果胁迫对小麦苗 PAL 活性的影响所不同的是,氧乐果处理对小麦苗 GSTs 和 LOX 活性的影响显示了相反的动态效应。在处理 120 h 内,小麦苗 GSTs 活性呈现了先降低,再升高,最后不再发生显著变化的波动。而氧乐果处理对小麦苗 LOX 活性的影响,则只有 500 和 1 000 mg/L 浓度在处理 12 和 24 h 显著抑制了 LOX 的活性。其余处理浓度及时间均未对 LOX 产生显著影响。可见,面对氧乐果处理的胁迫,小麦中 3 种防御相关酶——PAL、LOX 和 GSTs 所产生的防御响应有所不同,这应与 3 种防御相关酶具有不同的防御机制,以及 3 种酶对氧乐果胁迫的响应敏感度不同有关。

3.2 3 种药剂对小麦 PAL、LOX 和 GSTs 活性的影响

表 1~3 的结果表明:一定剂量的氧乐果处理对小麦苗 PAL、LOX 及 GSTs 活性均产生了一定的影响,而吡虫啉和灭多威处理只对小麦苗 PAL 产生了一定影响,对小麦苗 GSTs 和 LOX 均未产生显著影响。3 种药剂对小麦苗 PAL、LOX 和 GSTs 的影响有所不同,这应与 2 个方面的因素有关。一方面,3 种农药具有不同的化学结构和性质,因而对不同防御酶造成的影响有所不同;另一方面,由于 3 种药剂的田间推荐剂量不同,因而在本研究中 3 种药剂所采用的考察浓度有所不同。3 种杀虫剂中,氧乐果的推荐剂量较大,因而本研究所采用的氧乐果浓度较高。而吡虫啉和灭多威的田间推荐剂量较小,在本研究中的考察浓度也较低,对作物造成的浓度梯度和影响也相对较小。可见,除了农药本身性质对植物的影响外,药剂浓度在药剂对植物的胁迫中也会发挥一定的作用。因而,吡虫啉的低田间推荐剂量,也是保证其植物安全性的因素之一。

本研究表明:3 种药剂处理对小麦苗中 PAL 的

影响与药剂性质有关,并且具有一定的时间效应(表 1)。在处理 6 h,400 mg/L 灭多威处理抑制了小麦苗 PAL 活性,导致了 PAL 活性的降低,在处理 12 h,灭多威又对小麦苗 PAL 产生了一定的诱导作用,导致了 PAL 活性的显著升高,随着处理后时间继续延长直至 120 h,灭多威对小麦苗 PAL 活性不再产生显著的影响。与此类似,吡虫啉处理对小麦苗 PAL 的影响也显示了先抑制再诱导,最后不再产生影响的时间效应。与吡虫啉和灭多威对小麦苗 PAL 活性影响的时间效应相反,氧乐果处理对小麦苗 PAL 的影响则显示了先诱导,再抑制,最后不影响的时间效应。这应与 3 种药剂具有不同的理化性质,从而对小麦苗造成的胁迫压力不同有关。

上述结果还表明:在 3 种杀虫药剂的胁迫下,小麦苗 PAL 活性均发生了随着时间而变化的波动,随着处理后时间的继续延长,最后小麦苗 PAL 活性又恢复至不受影响的正常状态。这应与植物中农药浓度变化的时间动态^[23],以及胁迫下植物产生的防御响应的时间动态密切相关。植物在受到农药胁迫后,其防御相关酶活性会产生一定的变化来抵御这种逆境造成的危害。随着处理后时间的延长,一方面,农药进入植物后,植物通过防御及降解代谢等作用降低了植物中药剂的浓度及其胁迫强度,导致其对植物的胁迫不再剧烈;另一方面,植物对胁迫也产生了适应,因此,在农药处理植物后一段时间内,植物中防御相关酶的活性逐渐趋于正常。

表 1 的结果表明:低浓度吡虫啉(17.5 和 35.0 mg/L)处理对小麦 PAL 活性产生了先抑制,后诱导,最后不再产生影响的动态影响效应,但是高浓度吡虫啉(70.0 mg/L)处理,在处理 5 d 内,均未对小麦苗 PAL 的活性产生显著影响。这应与吡虫啉本身对植物的生长具有一定的促进作用有关。Thielert 等^[24]研究发现,棉花使用吡虫啉拌种后不仅防治了苗期蚜虫,且植株叶色浓绿,株高、根长与清水对照相比都有所增加。质量浓度为 70.0 mg/L 的吡虫啉为推荐计量的 1 倍,对小麦不仅有胁迫作用,而且还产生了较强的刺激生长作用,导致小麦更好的生长,可以更有效地抵御胁迫造成的危害,因此,70.0 mg/L 吡虫啉胁迫下,小麦苗 PAL 活性未产生显著变化。

从本试验的结果可以看出:一定剂量的 3 种杀虫剂会对小麦的防御相关酶活性产生影响,因而有可能对小麦的抗病虫防御性产生影响。这对于农药

的合理使用,掌握其对小麦的生长及小麦的产量影响都是很重要的。农药胁迫作用下对小麦的抗虫抗病性等抗逆能力的影响,及其具体的影响机制还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 郝岗平,杜希华,史仁玖. 干旱胁迫下外源一氧化氮促进银杏可溶性糖、脯氨酸和次生代谢产物合成[J]. 植物生理与分子生物学学报,2007,33(6):499-506
- [2] 何龙飞,沈振国,刘友良. 铝胁迫下钙对小麦根液泡膜功能和膜脂组成的影响[J]. 南京农业大学学报,2000,23(1):10-13
- [3] 王晨芳,黄丽丽,张宏昌,等. 小麦-条锈菌互作过程中活性氧及保护酶系的变化研究[J]. 植物病理学报,2009,39(1):52-60
- [4] Li Yue-na, Hou Li-gang, Qi Chun-yan, et al. Effects of different levels of phosphorus nutrient on the photosynthesis characteristic of rice flag leaf [J]. Agricultural Science & Technology, 2010, 11(6): 11-14
- [5] Ruuhola Teija, Yang Shi-yong. Wound-induced oxidative responses in mountain birch leaves [J]. Annals of Botany, 2006, 97: 29-37
- [6] 高增贵,陈捷,刘军华,等. 拮抗内生细菌 B20-006 菌株对玉米主要防御酶系的影响[J]. 植物病理学报,2007,37(1):102-104
- [7] 张宽朝,金青,蔡永萍,等. 苯丙氨酸解氨酶与其在重要次生代谢产物调控中的作用研究进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(12):59-62
- [8] 胡廷章,周大祥,罗凯. 植物谷胱甘肽转移酶的结构与功能及其基因表达[J]. 植物生理学通讯,2007,43(1):195-200
- [9] 李靖,马长乐. 植物脂氧合酶研究进展[J]. 生物学杂志,2007, 42(6):5-8,29
- [10] 刘井兰,于建飞,印建莉,等. 化学农药对植物生理生化影响的研究进展[J]. 农药,2006,45(8):511-514
- [11] 仪美芹,姜兴印,李学锋,等. 吡虫啉对番茄幼苗根系活力及生理生化指标的影响[J]. 植物保护,2010,36(2):71-74
- [12] Shirashyad V S, Kanade M B. Biochemical changes in crop plants treated with organosphosphorus pesticides [J]. Pesticide Research Journal, 2010, 22(1):55-58
- [13] 房锋,姜兴印,纪春涛,等. 种衣剂对山农饲玉7号玉米幼苗生长和相关酶活性的影响[J]. 农药学报,2009,11(1):98-103
- [14] 刘爱芝,陶岭梅,韩松,等. 吡虫啉拌种控制全生育期小麦蚜虫有效剂量评价[J]. 植物保护, 2009, 35(2):152-154
- [15] 刘爱芝,杨艳春. 吡虫啉拌种对小麦种子萌发和生长效应的影 响[J]. 河南农业科学, 2009(11):84-86
- [16] 鲁艳辉,高希武. 一种室内饲养麦蚜的方法[J]. 昆虫知识, 2007, 44(2):289-290
- [17] Qin Qiuju, Shi Xueyan, Liang Pei, et al. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and lipoxygenase in cotton seedlings by mechanical wounding and aphid infestation [J]. Progress in Natural Science, 2005, 15(5):419-423
- [18] Pamela J. H, David D, David J C, et al. Glutathione transferase activities and herbicide selectivity in maize and associated weed species [J]. Pestic Science, 1996, 46:267-275
- [19] Ferrarese M L L, Rodrigues J D, Ferrarese-Filho O. Phenylalanine ammonia-lyase activity in soybean roots extract measured by reverse-phase high performance liquid chromatography. Plant Biology, 2000, 2(2):152-153
- [20] Gerard P, Irzy K, Patrick Fuest E. Purification and characterization of a glutathione s- transferase from benoxacor-treated maize (Zea mays) [J]. Plant Physiol, 1993, 102:803-810
- [21] Axelrod B, Cheesbrough T M, Laakso S. Lipoxygenase from soybeans. Methods in Enzymology, 1981, 71:411-451
- [22] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of proteindye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254
- [23] 毛江胜,张红,孟静静. 吡虫啉在水稻中的残留动态研究[J]. 现代农药, 2006, 5(2):27-29
- [24] Thielert W. A unique product: The story of the imidacloprid stress shield [J]. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 2006, 59(1):73-84

责任编辑:王燕华