

营养胁迫下 3 种杀虫剂对小麦苯丙氨酸解氨酶活性的影响

吕超^{1,2}, 史雪岩², 高希武²

1. 青岛出入境检验检疫局, 山东青岛 266000
2. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193

摘要 营养胁迫及农药胁迫等逆境在农业田间生产中十分常见。为明确不同营养胁迫条件下, 常用杀虫剂使用对小麦苯丙氨酸解氨酶(PAL)的影响, 研究了 3 种质量浓度的吡虫啉、灭多威、氧乐果分别处理清水及营养液中培养的小麦苗后 5d 内, 对小麦苗苯丙氨酸解氨酶活性的影响。结果表明, 35mg/L 吡虫啉处理营养液组及清水组小麦苗后 6h 时, 小麦苗 PAL 均受到抑制, 活性显著降低; 在处理 12h 时, 营养液组小麦 PAL 活性与对照相比, 显著升高了 37.8%, 而清水培养的小麦苗 PAL 未出现显著升高; 100, 200, 400mg/L 灭多威处理对 2 组小麦苗中 PAL 活性的影响与吡虫啉处理类似。氧乐果处理后 6h, 营养液组小麦苗 PAL 活性比对照显著升高了 107.8%, 在处理 24h 时, 营养液组小麦 PAL 活性又显著降低, 而后变化不再显著; 而清水组小麦苗 PAL 活性在氧乐果处理后 12h 及 48h 时, 活性显著降低, 在处理 5d 内, 均无显著升高阶段。可见, 杀虫剂对小麦苗中 PAL 活性的影响与药剂本身的性质有关, 还具有一定的剂量效应与时间效应。营养状况对小麦苗的 PAL 防御响应也会产生一定的影响。清水培养组小麦与营养液培养组小麦相比, 在药剂胁迫下, PAL 活性在营养物质充足条件下的防御响应更为显著, 并迅速恢复为不受影响的正常状态。

关键词 吡虫啉; 灭多威; 氧乐果; 小麦苗; 苯丙氨酸解氨酶; 营养胁迫

中图分类号 S481.1

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.33.010

Effects of Three Kinds of Insecticides on Activities of Phenylalanine Ammonialyase in Wheat Seedlings under the Nutritional Stress

LU Chao^{1,2}, SHI Xueyan², GAO Xiwu²

1. Qingdao Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266000, Shandong Province, China
2. College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract The pesticide stress and the nutritional stress are two common adverse environmental stresses in the agricultural practice. As one kind of external stress factors, the pesticide application would affect the physiological and biochemical process of plants, such as the photosynthesis, the nutrient substance and the secondary metabolism. The nutrient substance would also affect the physiological and the biochemical processes of plants. In order to fight against the adversity, the plants would make a manifold recovery. The defense related enzymes of the plants play an important role in the fight against the adversity. The paper focuses on the effects of imidacloprid, methomyl and omethoate on the Phenylalanine Ammonialyase (PAL) in wheat seedlings under the nutrition stress. The activities of PAL in wheat seedlings were examined after treatment by three kinds of insecticides for 5 days. It is shown that the activity of PAL in wheat seedlings cultured in the nutrient solution experiences a significant descending-raising process after being treated by 35mg/L imidacloprid. The activity of PAL in wheat seedlings cultured in water does not experience a significant raising process. The studies involving methomyl reveal similar results as with imidacloprid. After being treated by omethoate, the activities of PAL in wheat seedlings with the two treatments saw a significant difference. After being treated by omethoate for 6h, the activity of PAL in wheat seedlings cultured in

收稿日期: 2012-08-24; 修回日期: 2012-10-11

基金项目: 农业部公益性行业科技专项(200903033); 国家自然科学基金项目(30771426); 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-06-0113)

作者简介: 吕超, 研究方向为昆虫毒理学, 电子邮箱: shevchenko113@126.com; 史雪岩(通信作者), 副教授, 研究方向为农药学、昆虫毒理学, 电子邮箱: shixueyan@sohu.com

nutritious substances significantly increased by 107.8%, after being treated for 24h, the activity of PAL saw a significantly decrease. Therefore, the activities of PAL in wheat seedlings might be affected by the presence of nutritious substances. The activities of PAL in wheat seedlings were influenced by the types of insecticides, as well as the concentration of insecticides and the treatment duration. Compared with wheat seedlings cultured in water, the activity of PAL of wheat seedlings cultured in a nutrient solution saw a more significant defense response.

Keywords imidacloprid; methomyl; omethoate; wheat seedling; phenylalanine ammoniolyase; stress of nutrient elements

农药和化肥的使用在农业生产中十分普遍,由此引起的农药胁迫及营养胁迫也引起广泛重视。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^[1]。而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。营养物质供给的变化也会对植物的生理生化及防御性造成影响。

植物为抵御逆境的胁迫,会进行多种机制的防御^[2-6]。植物体内的防御相关酶在其对逆境的防御中发挥了重要作用,苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanine Ammonialyase, 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、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。

目前,农药及化肥的使用对植物防御相关酶的影响引起了研究者的关注。农药方面, Santhoshkumar 等^[8]用卡巴呋喃处理黄瓜愈伤组织,导致黄瓜中 PAL 及过氧化物酶(POD)活性显著升高。Ford 等^[9]研究发现,吡虫啉和噻虫胺通过它们的代谢物 6-氯吡啶-3-羧酸和 2-氯噻唑-5-羧酸,诱导了拟南芥中与水杨酸相关的防御,增强了拟南芥对胁迫的耐受力。化肥方面,臧小云等^[10]研究发现荞麦叶片内 PAL 活性随叶片的成熟、衰老而下降,并且随着氮素水平的增加, PAL 活性下降幅度加大。

可见,农药及化肥的使用均会对植物防御相关酶活性以及植物的防御性产生一定的影响。但化肥及农药因素的共同作用对植物防御相关酶的影响研究尚未见报道。小麦是世界第二大粮食作物,化肥及农药的使用在小麦生产中发挥了重要作用。对于营养胁迫条件下,常用杀虫剂吡虫啉、灭多威和氧乐果处理对小麦苗防御相关酶——PAL 活性的影响研究尚未见报道。本文对此进行系统研究,以明确农药使用对小麦防御性的影响,为有效利用农药进行病虫害防治提供基础研究数据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

小麦品种为济麦 20。

试验药剂:10%灭多威可湿性粉剂(methomyl 10% WP, 美国杜邦公司);40%氧乐果乳油(omethoate 40% EC, 河北新兴化工有限公司);70%艾美乐水分散颗粒剂(吡虫啉,

imidacloprid 70% WDG, 德国拜耳公司);100,200,400mg/L 的灭多威,250,500,1000mg/L 的氧乐果,17.5,35,70mg/L 的吡虫啉(即分别与药浓度相当、高于和低于其 1 倍的浓度),通过将一定量的 10%灭多威可湿性粉剂、40%氧乐果乳油、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)。

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

1.2 试验方法

1.2.1 小麦幼苗的培养及处理

1.2.1.1 小麦幼苗的培养

清水浸小麦种子 24h 后,除去不完整的种子。将普通滤纸剪成直径约为 9cm 的圆片平铺于塑料培养皿中,加入 10mL 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—5d 供试^[11]。

1.2.1.2 小麦幼苗的处理

(1) 将配制好的药剂营养液加入到育有小麦的培养皿内,对小麦苗进行一次性内吸处理,每皿加 10mL 含有药剂的营养液,对照组每皿加入 10mL 营养液。在加药处理后 6,12,24,48,72,120h 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。

(2) 将配制好的药剂水溶液加入到育有小麦的培养皿内,对小麦苗进行一次性内吸处理,每皿加 10mL 含有药剂的清水,对照组每皿加入 10mL 清水。于加药处理后 6,12,24,48,72,120h 分别取样测定。用加入等量清水的小麦作对照,设 3 次重复。在小麦生长及处理的整个过程中,均只添加清水,不使用 Hoagland 营养液。

1.2.2 酶液提取

参照 Qin^[12]的方法。取小麦植株(去根)1g 在液氮中研磨成粉,加 0.1g PVPP 和 4mL 0.05mol/L pH 值为 8.8 的硼酸缓冲液(含 20mmol/L β-巯基乙醇和 1mmol/L 苯甲基磺酰氟),

10000g(4℃)离心 30min,取上清液作为酶液待测。

1.2.3 酶活性测定

酶反应体系参照 Qin^[12]的方法,稍加改进。3mL 反应体系含 1.7mL 0.05mol/L pH=8.8 的硼酸缓冲液,0.02mol/L 苯丙氨酸 1mL,0.3mL 酶液。30℃恒温水浴中反应 1h,加入 6mol/L 的 100μL 盐酸终止反应。用 HPLC 法测定反应液中生成的反式肉桂酸含量,参照 Ferrarese 等^[13]的方法,稍加改进。

液相色谱条件: 色谱柱:Agilent eclipse XDB-C18,4.6mm ID×150mm(5μm);检测器:二极管阵列检测器(DAD);柱温为 30℃;波长为 275nm;流速为 0.5mL/min;进样量为 20μL。流动相组成:甲醇:水的比例为 70:30,其中水中含有 0.15%乙酸。

实验设 3 次重复,每次重复平行测定 3 次。

1.2.4 蛋白含量测定

参照 Bradford^[14]考马斯亮蓝 G-250 方法。以牛血清白蛋白作为标准曲线,计算酶液中蛋白质含量。

1.2.5 数据处理与统计分析

实验测得数据采用 Microsoft Excel 进行平均值等运算,

并将数据代入下式计算酶比活力:

$$\text{比活力}(\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{pro})=(A-b)V_1\times 10^3/(a\cdot T\cdot P\cdot V_2)$$

式中, A 为样品中反式肉桂酸组分的峰面积; V_1 为反应体系的总体积(mL); V_2 为加入反应体系的酶液体积(mL); P 为蛋白质含量($\mu\text{g}/\text{mL}$); T 为反应时间(min); a, b 为反式肉桂酸标准曲线回归方程: $y=ax+b$ 中的系数。

使用 GraphPad Instat 3.00 软件对数据进行统计分析,并采用 t -检验法进行差异显著性比较, $P<0.05$ 表示 t 检验差异显著, $P<0.01$ 表示 t -检验差异极显著。

2 结果与分析

2.1 3 种药剂处理对营养液培养组小麦 PAL 活性的影响

考察用吡虫啉、灭多威和氧乐果处理营养液中培养的小麦苗后 5d 内,对小麦苗 PAL 活性的影响,结果见表 1。

17.5, 35, 70mg/L 吡虫啉分别处理营养液中生长的小麦幼苗,在处理 6h 时,17.5, 35mg/L 吡虫啉处理组小麦苗中 PAL 活性显著降低; 处理后 12h 时,17.5 和 35mg/L 浓度吡虫啉处

表 1 吡虫啉、灭多威、氧乐果处理对营养液组小麦苗 PAL 活性的影响

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

		营养液组小麦苗 PAL 活性/ $(\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{pro})$					
测定时间/h		6	12	24	48	72	120
CK		0.103±0.005	0.090±0.003	0.095±0.001	0.096±0.006	0.105±0.008	0.073±0.008
吡虫啉浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	17.5	0.083±0.003*	0.125±0.006*	0.100±0.006	0.088±0.011	0.123±0.010	0.066±0.004
	35	0.082±0.007*	0.126±0.010*	0.098±0.007	0.105±0.004	0.125±0.008	0.057±0.009
	70	0.094±0.003	0.116±0.008	0.095±0.006	0.105±0.008	0.101±0.005	0.066±0.010
灭多威浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	100	0.097±0.004	0.134±0.007*	0.094±0.002	0.110±0.009	0.118±0.009	0.053±0.003
	200	0.088±0.001	0.132±0.003*	0.090±0.005	0.104±0.003	0.153±0.024	0.072±0.007
	400	0.078±0.006*	0.136±0.002*	0.108±0.023	0.112±0.003	0.131±0.006	0.068±0.033
氧乐果浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	250	0.210±0.005*	0.116±0.012	0.078±0.002*	0.083±0.009	0.120±0.007	0.091±0.007
	500	0.215±0.028*	0.113±0.005	0.074±0.002*	0.091±0.002	0.109±0.005	0.065±0.010
	1000	0.202±0.013*	0.111±0.005	0.072±0.002*	0.098±0.009	0.101±0.005	0.075±0.001

注:*表示 t -检验差异显著($P<0.05$)。

Note: * shows significant difference by t -test ($P<0.05$).

理组小麦 PAL 活性显著升高,与对照相比分别升高 38.9%和 37.8%。随着处理后时间延长至 24, 48, 72, 120h, 17.5 和 35 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 5 天内, 70mg/L 吡虫啉未对小麦 PAL 活性产生显著影响。

100, 200, 400mg/L 灭多威分别处理营养液培养的小麦幼苗, 在处理 6h 时, 400mg/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 12h 时, 小麦 PAL 活性均显著升高。灭多威其余处理浓度及时间未对小麦苗 PAL 产生显著影响。

250, 500, 1000mg/L 的氧乐果分别处理小麦幼苗, 在处理

后 6h 时, 小麦苗中 PAL 活性与对照相比均显著升高; 在处理 12h 时, 3 个处理的小麦苗 PAL 活性未产生显著变化; 在处理 24h 时, 小麦苗中 PAL 活性均显著降低。随着处理后时间延长至 48, 72, 120h, 处理组小麦苗中 PAL 活性与对照相比差异均不显著。

2.2 3 种药剂处理对清水培养组小麦 PAL 活性的影响

考察用吡虫啉、灭多威和氧乐果处理清水中培养的小麦苗后 5d 内, 对小麦苗 PAL 活性的影响, 结果见表 2。

17.5, 35, 70mg/L 吡虫啉处理清水中生长的小麦苗, 在处理后的 5d 内, 考察小麦苗 PAL 活性的变化。发现在处理后 6h 时, 35 和 70mg/L 吡虫啉处理的小麦中 PAL 活性发生了显著

表2 吡虫啉、灭多威、氧乐果处理对清水培养组小麦苗 PAL 活性的影响
Table 2 Effects of imidacloprid, methomyl and omethoate on the activities of PAL in wheat seedlings cultured in water

测定时间/h	清水培养组小麦苗 PAL 活性/($\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{pro}$)						
	6	12	24	48	72	120	
CK	0.038±0.003	0.030±0.002	0.021±0.003	0.019±0.003	0.013±0.003	0.007±0.000	
吡虫啉浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	17.5	0.028±0.001	0.027±0.001	0.030±0.003	0.019±0.001	0.008±0.001	0.011±0.002
	35	0.024±0.003*	0.029±0.002	0.028±0.001	0.015±0.003	0.008±0.003	0.011±0.003
	70	0.025±0.003*	0.024±0.001	0.027±0.002	0.014±0.002	0.008±0.002	0.009±0.001
灭多威浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	100	0.029±0.003	0.033±0.004	0.014±0.004	0.017±0.005	0.010±0.002	0.012±0.001
	200	0.031±0.001	0.034±0.004	0.023±0.007	0.016±0.004	0.010±0.004	0.008±0.001
	400	0.031±0.006	0.031±0.006	0.020±0.001	0.019±0.003	0.008±0.002	0.007±0.003
氧乐果浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	250	0.043±0.005	0.023±0.003	0.022±0.002	0.015±0.002	0.005±0.002	0.006±0.002
	500	0.043±0.001	0.020±0.002*	0.020±0.001	0.009±0.001*	0.007±0.001	0.003±0.001
	1000	0.044±0.003	0.020±0.002*	0.015±0.002	0.010±0.001*	0.006±0.001	0.003±0.001

注:*表示 *t*-检验差异显著 ($P<0.05$)。

Note:* shows significant difference by *t*-test ($P<0.05$).

降低;在其余处理浓度和处理后时间,小麦苗 PAL 活性与对照相比均无显著变化。

100,200,400mg/L 灭多威处理清水培养的小麦苗,在处理 5d 内,小麦苗中 PAL 活性与对照相比无明显变化。

250,500,1000 mg/L 氧乐果分别处理清水培养的小麦幼苗,在处理 12h 及 48h 时,500 和 1000mg/L 氧乐果处理的小麦苗中 PAL 活性与对照相比均显著降低,随着处理后时间延长至 72h 和 120h,处理组小麦苗中 PAL 活性与对照相比差

异不再显著。

2.3 药剂处理后,清水培养组小麦与营养液培养组小麦 PAL 活性的相对变化的比较

为清晰比较同一农药胁迫下,营养液组小麦苗 PAL 与清水组小麦苗 PAL 活性的变化趋势的异同,以及明确营养液在小麦 PAL 对农药胁迫的防御反应中的作用,针对推荐剂量杀虫药剂处理的小麦苗,比较了营养液组小麦与清水组小麦中 PAL 活性的相对变化的趋势(图 1)。

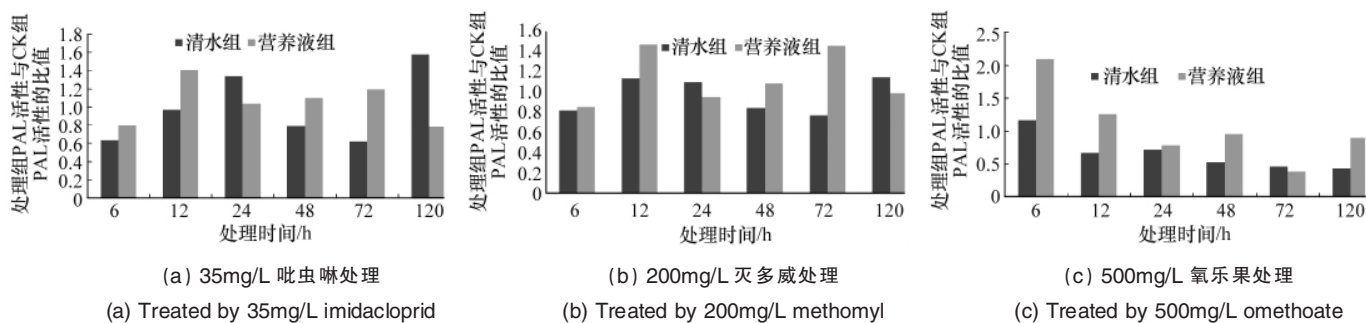


图1 药剂处理后,清水培养组小麦与营养液培养组小麦 PAL 活性的相对变化的比较
Fig. 1 Trend of relative change of PAL activities in wheat seedlings cultured in water and that cultured in nutrient solution after being treated by insecticides

注:数值 1 表示小麦 PAL 活性与其对照一致,小于 1 为 PAL 被抑制,数值大于 1 为 PAL 被诱导。

Notes: Value 1 means the same as CK, lower than 1 indicates inhibition, bigger than 1 indicates induction.

图 1(a)中,35mg/L 吡虫啉处理对营养液及清水中培养的小麦苗 PAL 的活性产生了一定影响,其中,在处理 6h 时,均造成了 2 组小麦苗中 PAL 活性的降低,在处理 12h 时,营养液组小麦 PAL 活性显著增高,与对照相比升高了 37.8%,随着处理后时间继续延长至 24,48,72,120h,营养液

组小麦 PAL 活性与对照相比差异不再显著,可见,对于吡虫啉的胁迫,营养液组小麦的 PAL 活性在处理 6h 及 12h 分别出现了降低与升高的波动,随着处理后时间继续延长,PAL 活性变化不再显著。而清水组小麦苗 PAL 的活性,在处理 6h 时也出现了显著降低,但是直到处理后 24h 时,其 PAL 的

活性才出现了增高;随着处理后时间延长至72h及120h,清水培养的小麦苗PAL活性又再次出现了降低与升高的波动。

200mg/L灭多威处理小麦苗后,对2组小麦苗中PAL活性的影响结果与吡虫啉处理相似(图1(b))。在处理6h时,对2组小麦苗中的PAL活性均产生了抑制作用,然而营养液组小麦苗PAL活性在处理12h与对照相比显著升高了47.9%,随后恢复至不再受影响的状态,而清水组小麦苗PAL活性,没有出现明显的升高阶段,并且在处理后48h和72h,灭多威处理对清水组小麦苗PAL活性的抑制作用又再次显现。100mg/L与400mg/L灭多威处理后,2组小麦苗PAL活性也出现了相似变化。

与吡虫啉和灭多威处理后6h就对2组小麦苗中PAL活性产生了抑制作用不同,对清水组小麦苗及营养液组小麦苗进行500mg/L氧乐果处理(图1(c)),在处理6h时,营养液处理组的小麦苗PAL活性与其对照性比显著升高了107.8%,在处理24h时,营养液组小麦PAL活性显著降低,而后其变化不再显著;清水组小麦苗PAL活性在处理12h及48h时,活性显著降低。在处理5d内,清水处理组小麦苗PAL活性无显著升高阶段,其PAL活性处于不稳定状态。

3 讨论

3.1 3种药剂对营养液培养组小麦中PAL活性的影响

药剂处理会引起植物PAL活性的变化,如经磷胺处理后,菜豆和洋葱体内PAL活性升高;将吡虫啉注射到垂柳树干中,导致了垂柳体内PAL活性升高^[15]。

PAL是一种与植物抗病虫害、抗逆等密切相关的防御酶,本研究表明,一定剂量的农药处理会对营养液培养组小麦苗中PAL活性产生影响,并且具有一定的时间效应(表1)。在处理6h时,17.5,35mg/L吡虫啉处理抑制了小麦苗PAL活性,导致了PAL活性的降低,在处理12h,吡虫啉又对小麦苗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120h,吡虫啉对小麦苗PAL活性不再产生显著的影响。与此类似,高浓度灭多威处理对小麦苗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。这应与小麦苗对农药处理造成的胁迫产生了一定的防御有关。

植物对进入体内的外来化合物(包括农药)具有广泛的代谢降解和防御能力。植物对脂溶性农药最初的代谢通常是使农药分子的极性提高,其中最普遍的代谢机制是氧化机制,如羟基化、硫氧化或脱烷基反应等。随后,初级代谢产物在植物中,可以继续与天然的植物组分(如葡萄糖,木质素等)结合,变成高水溶性,或是被传送到细胞液泡内,而成为生物惰性体^[16]。如有机磷类杀虫剂(如氧乐果)等在植物体内的代谢,不仅可以发生由P=S体向P=O氧化、硫醚键的亚砷、砷氧化、羧甲基化等反应,并且可以进行将羧酸酯结构、酰胺结构等水解及在氧化前后切断P-O-芳基结构的

反应,代谢生成的醇、酚类等代谢物可以与葡萄糖等形成结合体,而留在植物体内^[17]。

PAL是连接初级代谢和苯丙烷类代谢的关键酶。苯丙烷类途径生成的木质素、黄酮、生物碱等次生代谢产物,在植物抗逆境过程中发挥着重要的作用。通常在植物受到胁迫后,其PAL活性会产生显著变化从而影响苯丙烷途径,增大木质素的合成,木质素可以与进入植物体内的外来物结合并将其固定,从而减轻或消除外来物质对植物的胁迫和伤害。农药的剂量越大,对植物的胁迫越强,对木质素等次生代谢物的需求量越高,PAL活性越强。因此,PAL活性的变化可以反映植物受到的胁迫大小,以及植物对外来物质的防御。本研究表明,一定剂量的吡虫啉和灭多威处理导致小麦苗PAL活性的变化,反映出小麦苗对农药处理造成的胁迫产生了一定的防御。

与吡虫啉和灭多威对小麦苗PAL活性影响的时间效应相反,氧乐果处理对营养液组小麦苗PAL活性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种药剂具有不同的毒理性质,对小麦苗产生了不同的毒理机制有关。

表1、表2结果表明,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,但是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,这应与植物对进入体内的农药产生了一定的代谢降解作用有关。Ford等^[18]报道了7种新烟碱类杀虫剂在菠菜中的代谢降解路径,其中在处理第6天,菠菜内的吡虫啉含量降解为初始含量的50%。Ralf等^[19]研究发现,吡虫啉喷雾处理棉花后,吡虫啉降解缓慢,而在吡虫啉土壤处理以及种衣剂处理的棉花中,吡虫啉被降解为7种代谢物,其中有2种代谢物对桃蚜具有很好的杀虫活性。因此,在植物中,对外来化合物包括农药的代谢降解是广泛存在的。随着处理后时间的延长,由于植物对农药的代谢降解等作用,导致植物中农药的浓度有所降低,对植物的胁迫也有所降低,从而植物中的防御酶活性的变化也不再强烈。

3.2 药剂处理后,清水培养组小麦与营养液培养组小麦PAL活性的相对变化的比较

营养物质缺乏作为植物生长过程中的一种重要胁迫,会对植物生理生化产生一定的影响。图1考察了推荐剂量杀虫药剂处理后,营养液组小麦苗与清水组小麦苗中PAL活性的相对变化的趋势。

结果表明,营养成分存在与否对小麦苗PAL活性相关的防御响应产生了一定的影响。营养液组小麦苗在受到药剂处理胁迫后,PAL活性波动出现的较快,并且在处理后一段时间即恢复至正常状态;而清水组小麦苗PAL活性的波动持续较长,并且出现多次波动,其PAL活性的恢复过程不明显。如面对吡虫啉药剂处理的胁迫,清水组小麦苗的PAL活性在产生了显著降低后,其PAL活性的升高阶段在24h才出现,并且

在处理第 3 天又出现了第 2 次的降低与升高的波动, 在处理第 5 天其 PAL 活性仍然难以恢复至正常状态; 而营养液组小麦苗中 PAL 活性的降低与升高的波动状态出现的较快, 并且在处理后 24h 以后, 即恢复至没有显著变化的正常状态。500mg/L 氧化乐果处理后, 清水组小麦苗与营养液组小麦苗 PAL 的变化趋势也具有显著的差异。清水组小麦苗 PAL 活性在处理 12h 及 48h 时, 活性显著降低, 在处理 5d 内, 清水处理组小麦苗 PAL 活性无显著升高阶段。在处理 6h 时, 营养液组的小麦苗 PAL 活性与其对照性相比, 显著升高了 107.8%, 在处理 24h 时, 营养液组小麦 PAL 活性显著降低, 而后其变化不再显著。可见, 营养物质的存在在小麦 PAL 对农药胁迫的防御反应中发挥了一定作用。在营养物质存在的条件下, 受到农药处理胁迫后, 小麦苗 PAL 活性具有一个显著升高阶段, 这可以有效地促进植物的苯丙烷途径, 合成更多的木质素等次生代谢物质, 对由药剂造成的胁迫产生更好的代谢降解与防御作用。

4 结论

杀虫剂对小麦苗中 PAL 活性的影响不仅与药剂本身的性质有关, 还具有一定的剂量效应与时间效应。营养状况对小麦苗的 PAL 防御响应也会产生一定的影响。农药胁迫及营养胁迫共同作用于小麦, 会对小麦中的 PAL 的活性产生一定影响。农药、营养 2 种胁迫共同作用下, 对小麦 PAL 相关的抗虫抗病性等抗逆能力的影响及具体的影响机制还有待进一步深入研究。

参考文献 (References)

- [1] 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.
Liu Jinglan, Yu Jianfei, Yin Jianli, et al. *Agrochemicals*, 2006, 45(8): 511-514.
- [2] 方兴, 钟章成, 闰明, 等. 增强 UV-B 辐射与不同水平氮素对谷子 (*Setaria italica*(L.) Beauv.) 叶片保护物质及保护酶的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(1): 284-291.
Fang Xing, Zhong Zhangcheng, Yan Ming, et al. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(1): 284-291.
- [3] 薛乃雯, 冷平生, 孙譔, 等. 土壤干旱胁迫对 8 种景天属植物生长与生理生化指标的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 13: 302-307.
Xue Naiwen, Leng Pingsheng, Sun Xuan, et al. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 13: 302-307.
- [4] Li Y N, Hou L G, Qi C Y, 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] Teija R, Yang S Y. Wound-induced oxidative responses in mountain birch leaves[J]. *Annals of Botany*, 2006, 97: 29-37.
- [6] 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报, 2007, 33(6): 499-506.
Hao Gangping, Du Xihua, Shi Renjiu. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2007, 33(6): 499-506.
- [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.

Zhang Kuanchao, Jin Qing, Cai Yongping, et al. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(12): 59-62.

- [8] Santhoshkumar K, Prakashkumar B, Mathew M M. Effect of carbofuran on defence related enzymes in the calli of *Cucumis sativus* Linn[J]. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 2009, 10(3-4): 101-106.
- [9] Ford K A, Casida J E, Chandran D, et al. Neonicotinoid insecticides induce salicylate-associated plant defense responses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(41): 17527-17532.
- [10] 臧小云, 刘丽萍, 蔡庆生. 不同供氮水平对荞麦茎叶中黄酮含量的影响[J]. 南京农业大学学报, 2006, 29(3): 28-32.
Zang Xiaoyun, Liu Liping, Cai Qingsheng. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2006, 29(3): 28-32.
- [11] 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.
Lu Yanhui, Gao Xiwu. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2007, 44(2): 289-290.
- [12] Qin Q J, Shi X Y, Liang P, 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.
- [13] 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[J]. *Plant Biol*, 2000, (2): 152-153.
- [14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein dye binding[J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-254.
- [15] 唐光辉, 张臻, 何军, 等. 树干注药对柳树几种保护酶活性及游离脯氨酸含量的影响[J]. 中国农业大学学报, 2007, 12(3): 32-36.
Tang Guanghui, Zhang Jing, He Jun, et al. *Journal of China Agricultural University*, 2007, 12(3): 32-36.
- [16] 仲哲. 植物体内农业化学品的解毒和活化[J]. 农药译丛, 1995, 17(4): 41-58.
Zhong Zhe. *Pesticides Series*, 1995, 17(4): 41-58.
- [17] Thielert W. A unique product: The story of the imidacloprid stress shield[J]. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 2006, 59(1): 73-84.
- [18] Kevin A. Ford, John E. Casida. Comparative metabolism and pharmacokinetics of seven neonicotinoid insecticides in spinach [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56: 10168-10175.
- [19] Ralf N, Klaus T, Klaus W, et al. Efficacy of plant metabolites of imidacloprid against myzus persicae and aphid gossypii (Homoptera: Aphididae)[J]. *Pestic Sci*, 1998, 52: 53-57.

(责任编辑 陈广仁)

《科技导报》“研究论文”栏目征稿

“研究论文”栏目专门发表自然科学、工程技术领域具有创新性的研究论文, 要求学术价值显著、实验数据完整、具有原始性和创造性, 同时应重点突出、文字精炼、引证及数据准确、图表清晰, 并附中、英文摘要以及作者姓名、所在单位、通信地址、关键词等信息。在线投稿: www.kjdb.org。