

不同农药对棉花同工酶的影响

郭 明, 李树伟, 闫志顺, 鲁 毅, 何世国

(塔里木农垦大学基础课部, 新疆 阿拉尔 843300)

摘 要: 采用聚丙烯酰胺凝胶 (PAGE) 电泳法研究了喷施农药对棉花植株同工酶谱的影响, 分析了不同农药、不同棉花品种、施药后不同时间间隔、不同生育期棉株过氧化物酶 (POD) 同工酶谱的变化和差异。结果表明, 喷施不同农药、不同棉花品种、不同生育期及施药后不同时间间隔均对棉株 POD 同工酶产生不同的影响。

关键词: 棉花; 农药; 过氧化物酶; 同工酶

中图分类号: X839. 2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 – 0267(2002)01 – 0063 – 04

Effects of Various Pesticides on Peroxidase Isozymes of Cotton Leaf

GUO Ming, LI Shu-wei, YAN Zhi-shun, LU Yi, HE Shi-guo

(Department of Basic Courses, Tarim University of Agricultural Reclamation, Alar, Xinjiang 843300, P. R. China)

Abstract: In the present simulated experiment, effects of several pesticides on peroxidase isozymes of cotton plant are evaluated using polyacrylamide gel electrophoresis. Changes and differences of peroxidase isozymes were determined with applying different pesticides, different varieties of cotton, different growth duration and several time intervals. The results showed that enzyme bands of peroxidase isozyme had some various effects in this paper condition.

Keywords: pesticides; cotton; peroxidase; isozyme

近几十年来,各种农用化学物质大量应用于农业生产中,对农业的增产起到重要作用,但农用化学物质的广泛应用,可能破坏农业生态环境,并影响生物体的生理及代谢等过程^[1、2],所以研究农用化学物质对本地区特色植物——棉株过氧化物酶同工酶的影响很有必要。

过氧化物酶是一族能利用 H₂O₂ 氧化供氢体的酶,广泛存在于植物体内,不同的外界条件均可诱导过氧化物酶同工酶发生变化。据报道,过氧化物酶同工酶的变化可加强植物的抗病性^[4、5],但喷施农药对长绒棉及彩棉植株同工酶谱有何影响还未见报道。本文采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法研究了不同农药对棉株过氧化物酶同工酶的影响,试图从不同角度对农药在本地区特有的气候环境条件下对植株体的影响作初步探讨。

1 材料和方法

收稿日期:2001 – 02 – 12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29767001);同时得到了新疆生产建设兵团科委科研基金的资助

作者简介: 郭 明(1967—),男,副教授,现主要从事农业生态环境中有机毒物毒性的基础性研究工作。

1.1 试验材料

供试材料为棉花植株,品种为“棕色彩棉”和“新海—14”(长绒棉)。试验在塔里木农垦大学实验站进行。供试农药为有机氯类农药:35% 塞丹(thiodan)乳油(6, 7, 8, 9, 10, 10 – 六氯 – 1, 5, 5a, 6, 9, 9a – 六氢 – 6, 9 – 甲撑 – 2, 4, 3 – 苯并 [e] 二氧硫庚 – 3 – 氧化物);有机磷类农药:40% 久效磷(monocrotophos)乳油(O, O – 二甲基 – O – [1 – 甲基 – 2 – (甲基氨基甲酰) – 乙烯基磷酸酯]);拟除虫菊酯类农药:2.5% 天王星(bifenthrin)乳油(2 – 甲基联苯基 – 3 – 基甲基(Z) – (IRS) – 顺 – 3 – (2 – 氯 – 3, 3, 3 – 三氯丙 – 1 – 烯基) – 2, 2 – 二甲基环丙烷羧酸酯)。

1.2 方法

1.2.1 取样 本试验于4月底幼苗展开两片真叶时,喷施不同农药并取其真叶进行同工酶电泳试验,观察不同农药对棉株幼苗同工酶的影响。另于6月底喷施不同农药于大小长势一致的成型棉株并分别于24 h、48 h、72 h,取“棕色彩棉”和“新海—14”的功能叶倒2叶、倒5叶及倒8叶进行同工酶电泳试验,观察不同农药对成型棉株功能叶同工酶的影响。同时,以喷施清水处理为对照(CK),各试验均3次重复。

1.2.2 样品制备 用冰盒取回待测样品。洗净后用滤

纸擦干, 每克鲜重加 2 mL 样品提取液 (Tris12. 1g + ddH₂O 1 000 mL, HCl 调 pH 至 8. 0), 冰浴研磨成匀浆, 高速低温 (0 ℃—4 ℃) 冷冻离心 (8 000 r · min⁻¹) 10 min。取上清液加等量 20% 甘油、一滴溴酚兰作待测酶液。

1. 2. 3 电泳 用不连续聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳分离同工酶, 聚丙烯酰胺凝胶系统中分离胶浓度为 7. 5%, 浓缩胶浓度为 3. 1%。电极缓冲液为 pH8. 3 的 Tris - Gly 缓冲系统。每样品槽加样 25 μL 左右, 在 4 ℃ 冰箱中 120 V 恒压电泳 7 h。

1. 2. 4 染色 用联苯胺法染色^[6]: 剥下胶板先在 pH4. 7 乙酸缓冲液中活化片刻。倾去乙酸溶液, 倒入联苯胺染色液。待蓝色条带全显后, 倾去染色液。倒入 7% 乙酸固定。测定各谱带相对迁移率 R_f 值 (由负极向正极), 其中 R_f 值的计算公式为 $R_f = x_2 / x_1$ (x_1 = 固定染色前凝胶的迁移距离; x_2 = 固定染色后凝胶中酶蛋白区带的迁移距离), 用玻璃纸包胶, 制成干胶片保存。

2 结果与分析

2. 1 不同农药处理对成型“棕色彩棉”同工酶的影响

不同农药的处理浓度参照农药使用说明和本地区大田使用剂量施用, 不同农药处理对成型“棕色彩棉”POD 同工酶的影响见表 1。酶带图谱对应于图 1。

由表 1 可见, 与对照相比, 喷施赛丹后第 1、2、3 d “棕色彩棉”的 POD 同工酶酶谱无明显差异, 同工酶依然是 3 条基本酶带。喷施久效磷后第 1、2、3 d, “棕色彩棉”POD 同工酶酶谱发生了变化。在药后第 3 d, 倒 2 叶有两条酶带 a、b 未出现, 倒 5 叶有一条酶带 a

(酶带序号说明: 1、2、3——喷施赛丹后 1、2、3 d; 4、5——喷施久效磷后 1、2 d; 6、7、8——喷施久效磷后第 3 d 倒 2 叶、倒 5 叶、倒 8 叶; 9、10——喷施天王星后 1、2 d; 11——喷施天王星后第 3 d 倒 2 叶、倒 5 叶; 12——喷施天王星后第 3 d 倒 8 叶; 13——CK)

图 1 不同农药处理对成型“棕色彩棉”

POD 同工酶的影响图谱

Figure 1 Spectrum of effects of various treatments with different pesticides on peroxidase isozyme (Rf in cm) in leaf of molding brown - color cotton

未出现, 倒 8 叶差异不明显。喷施天王星后第 3 d, 倒 8 叶新增加一条酶带 (说明: 该酶带的异常出现, 我们不能分析其原因, 同时又恰逢该样品处理不慎, 浪费较多, 以至于无法再次进行重复试验, 故该酶带的异常出现可能是倒 8 叶样品处理过程中操作不慎造成的)。

2. 2 不同农药处理对成型“新海 - 14”功能叶 POD 同工酶酶谱的影响

不同农药的处理浓度同时参照了我们进行大量预备试验所选择使用的剂量施用。不同农药处理对成型“新海 - 14”功能叶 POD 同工酶的影响见表 2。酶带图谱对应于图 2。

由表 2 可见, 不同药剂处理, 不同叶片, 施药后不同时间间隔, “新海 - 14”POD 同工酶酶谱差异不明显, 都具有两条基本酶带。

表 1 不同农药处理对成型 棕色彩棉 POD 同工酶 R_f 值的影响 (单位: cm)

Table 1 Effects of various treatments with different pesticides on peroxidase isozyme (R_f in cm) in leaf of molding brown - color cotton

处理	酶带 序号	药后 1 d			药后 2 d			药后 3 d		
		倒 2 叶	倒 5 叶	倒 8 叶	倒 2 叶	倒 5 叶	倒 8 叶	倒 2 叶	倒 5 叶	倒 8 叶
35% 赛丹乳油 125	a	0. 200	0. 197	0. 196	0. 200	0. 200	0. 192	0. 223	0. 223	0. 223
	b	0. 261	0. 258	0. 259	0. 257	0. 257	0. 250	0. 253	0. 253	0. 253
	c	0. 288	0. 300	0. 300	0. 300	0. 300	0. 293	0. 299	0. 299	0. 299
40% 久效磷乳油 1000	a	0. 204	0. 196	0. 189	0. 193	0. 193	0. 185	—	—	0. 223
	b	0. 259	0. 258	0. 250	0. 257	0. 250	0. 250	—	0. 261	0. 253
	c	0. 303	0. 303	0. 300	0. 300	0. 300	0. 300	0. 299	0. 299	0. 299
2. 5% 天王星乳油 400	a'									0. 186
	a	0. 189	0. 189	0. 194	0. 181	0. 181	0. 181	0. 224	0. 224	0. 224
	b	0. 256	0. 242	0. 242	0. 239	0. 232	0. 217	0. 261	0. 261	0. 261
	c	0. 287	0. 286	0. 287	0. 300	0. 300	0. 300	0. 313	0. 313	0. 313
CK	a	0. 196	0. 182	0. 189	0. 186	0. 186	0. 190	0. 216	0. 216	0. 224
	b	0. 235	0. 227	0. 242	0. 242	0. 250	0. 250	0. 261	0. 261	0. 254
	c	0. 288	0. 285	0. 284	0. 285	0. 300	0. 300	0. 299	0. 299	0. 299

表 2 不同农药处理对成型“新海—14”POD 同工酶 R_f 值的影响 (单位:cm)

Table 2 Effects of various treatments with different pesticides on peroxidase isozyme (R_f in cm) in leaf of molding "Xinhai - 14" cotton										
处理	酶带 序号	药后 1d			药后 2d			药后 3d		
		倒 2 叶	倒 5 叶	倒 8 叶	倒 2 叶	倒 5 叶	倒 8 叶	倒 2 叶	倒 5 叶	倒 8 叶
35% 赛丹乳油 200	a	0. 258	0. 258	0. 258	0. 245	0. 254	0. 254	0. 245	0. 245	0. 245
	b	0. 318	0. 318	0. 323	0. 300	0. 309	0. 309	0. 294	0. 294	0. 294
40% 久效磷乳油 2000	a	0. 258	0. 258	0. 254	0. 255	0. 255	0. 255	0. 258	0. 258	0. 258
	b	0. 318	0. 318	0. 318	0. 309	0. 309	0. 309	0. 293	0. 293	0. 293
2. 5% 天王星乳油 400	a	0. 258	0. 258	0. 258	0. 259	0. 259	0. 259	0. 258	0. 258	0. 258
	b	0. 303	0. 303	0. 318	0. 296	0. 296	0. 296	0. 294	0. 294	0. 294
CK	a	0. 261	0. 258	0. 258	0. 247	0. 247	0. 247	0. 258	0. 258	0. 258
	b	0. 318	0. 318	0. 303	0. 296	0. 296	0. 300	0. 290	0. 290	0. 300

表 3 不同农药处理对“新海—14”幼苗真叶
POD 同工酶 R_f 值的影响 (cm)

Table 3 Effects of various treatments with different pesticides on peroxides isozyme (R_f in cm) in leaf of young cotton seedling of "Xinhai - 14"					
处理	酶带 序号	药后 1 d		药后 2 d	
		真叶 1	真叶 2	真叶 1	真叶 2
35% 赛丹 乳油 200	a	0. 258	0. 250	0. 258	0. 262
	b	0. 290	0. 294	0. 300	0. 303
40% 久效磷 乳油 2000	a	0. 264	0. 264	—	—
	b	0. 314	0. 304	0. 290	0. 290
2. 5% 天王星 乳油 800	a'	0. 204	0. 194	0. 201	0. 202
	a	0. 274	0. 264	0. 250	0. 250
	b	0. 319	0. 319	0. 290	0. 298
CK	a	0. 264	0. 254	0. 254	0. 254
	b	0. 324	0. 324	0. 288	0. 305

(酶带序号说明:1、2、3——喷施赛丹后 1、2、3 d;4、5、6——喷施久效磷后 1、2、3 d;7、8、9——喷施天王星后 1、2、3 d;10——CK)

图 2 不同农药处理对成型“新海—14”
POD 同工酶的影响图谱

Figure 2 Spectrum of effects of various treatments with different pesticides on peroxidase isozyme (R_f in cm) in leaf of molding Xinhai - 14 cotton

2.3 不同农药处理对“新海 - 14”幼苗真叶 POD 同工酶酶谱的影响

不同农药处理对“新海 - 14”幼苗真叶 POD 同工酶酶谱的影响见表 3。酶带图谱对应图 3。

由表 3 可见,与对照相比,喷施赛丹后第 1、2 d 幼苗真叶 POD 同工酶 酶谱无明显差异。但喷施久效磷后第 2 d 幼苗真叶 POD 同工酶只出现一条酶带。喷施天王星后第 1、2 d, 幼苗真叶各自都新增加了一条酶带。

3 结论

(1) 试验结果表明,未喷施农药“棕色彩棉”功能叶的酶谱上均主要有 3 条基本酶带, R_f 值分别为 0. 196、0. 235、0. 288。未喷施农药“新海—14”功能叶的酶谱上均主要有两条基本酶带, R_f 值分别为 0. 258、0. 318。可见不同品种棉株 POD 同工酶酶谱是不同的,初步说明 POD 同工酶可以作为鉴别“棕色彩棉”和长绒棉“新海—14”差异的一个生化指标。

(2) 喷施农药赛丹后,无论是成型“棕色彩棉”的功能叶,还是成型“新海—14”的功能叶及其幼苗真叶,与对照棉叶的 POD 同工酶酶谱都无明显差异。说

(酶带序号说明:1、2——喷施赛丹后 1、2 d; 3——喷施久效磷后 1 d; 4——喷施久效磷后第 2 d 真叶 1; 5——喷施久效磷后第 2 d 真叶 2; 6、7——喷施天王星后 1、2 d;8——CK)

图 3 不同农药处理对“新海—14”幼苗真叶
POD 同工酶的影响图谱

Figure 3 Spectrum of effects of various treatments with different pesticides on peroxides isozyme (R_f in cm) in leaf of young cotton seedling of "Xinhai - 14"

明赛丹在我们的试验浓度下对棉叶本身 POD 同工酶没有明显影响。

(3) 喷施农药久效磷后,在药后第 3 d“棕色彩棉”功能叶倒 2 叶有两条酶带 a、b 未出现,倒 5 叶有一条酶带 a 未出现。在药后第 2 d“新海—14”幼苗真叶上有一条酶带 a 未出现。初步表明久效磷对棉叶过氧化

物同工酶有一定影响,在我们试验用药浓度下及试验期内,一定程度上可能抑制棉叶 POD 同工酶的高效表达。同时,棉花品种不同,功能叶部位不同,可能影响结果不同。

(4)喷施农药天王星后,成型“新海—14”功能叶 POD 同工酶酶谱与对照无明显差异。但“新海—14”幼苗在药后第 1、2 d,真叶上都各自新增加一条酶带 a'。表明天王星在我们试验用药浓度下对棉叶 POD 同工酶有一定影响,特别在幼苗期可能促进真叶 POD 同工酶的高效表达。

研究表明,在试验期内,赛丹对“棕色彩棉”、“新海—14”的功能叶和幼苗真叶 POD 同工酶均无明显影响。久效磷对“棕色彩棉”功能叶、“新海—14”幼苗真叶 POD 同工酶的表达及活性有一定的抑制作用。天王星对“新海—14”幼苗真叶 POD 同工酶的高效表达有一定的促进作用。POD 是基因表达的产物,其在酚类聚合成木质素中起着重要作用,能增强组织木质化的程度。它在植物体内的活性及同工酶也同

植物抗病性有密切关系。由于我们的试验条件十分有限,仅能对 3 种农药对棉株 POD 同工酶的影响作初步研究,至于农药诱导棉花 POD 同工酶表达机理、作用方式等深层次问题有待于进一步探讨。

参考文献:

- [1] 宾金华,潘瑞织. 茉莉酸甲酯诱导烟草幼苗抗病与过氧化物酶活性和木质素含量的关系[J]. 应用与环境生物学报,1995,5(2): 160-164.
- [2] Chen Z-X, Silva H, Klessig D F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid[J]. *Science*, 1993, 262: 1 883-1 886.
- [3] 胡能书,万国贤. 同工酶技术及应用[M]. 长沙:湖南科学技术出版社,1985. 104-105.
- [4] 沈其益,阎隆飞,等. 棉花感染枯萎病后过氧化物酶同工酶的变化[J]. 植物学报,1978,20(2):108-113.
- [5] 汪 跃,金开旋. 山楂丛枝病过氧化物同工酶的研究[J]. 林业科学研究, 1994,7(2):203-205.
- [6] 陈毓荃. 生物化学研究技术[M]. 北京:中国农业出版社,1995. 223-225.

关于召开“新世纪(首届)全国绿色环保农药技术论坛暨产品展示会”的通知

有关地方政府生态农业办公室、科研院所、大专院校、农药生产企业、腐植酸生产企业、绿色食品生产基地、各农药经营单位:

为了推动我国绿色环保农药的产业化进程,迎接入世后带来的机遇和挑战,由中国农药工业协会、中国农业生态环境保护协会、中国腐植酸工业协会和中国植物病理学会植保生防专业委员会联合主办的“新世纪(首届)全国绿色环保农药技术论坛暨产品展示会”,经过半年来的组织筹备已经准备就绪。现就会议有关事项通知如下:

一、会议内容

本次会议特邀本行业德高望重的院士、行业主管部门领导和著名专家学者做专题报告。会议将围绕“绿色环保农药”这一主题,就我国生物农药产业化现状及问题;生物源农药的研究与开发;微生态学与微生物药肥的开发;植物病虫害鼠生物防治的研究;腐植酸类物质与农药;农产品安全生产;绿色环保农药科技创新体系;我国生物农药登记要求;绿色环保农药的策划与营销等内容展开研讨。同时,会议将组织技术交流和产品(包括生产设备)展示。

二、会议组织机构

大会组织机构由组织委员会和学术委员会组成。

1. 组织委员会

名誉主任:相重扬(原农业部副部长)

主 任:王家敏

副主任:王律先 曾宪成 郭志凯

委 员:相重扬 王家敏 王律先 曾宪成 郭志凯

胡 梅 杜煜光 吴元华 李世东 蒋细良 谈留雄 王 琦

2. 学术委员会

名誉主任:沈寅初(中国工程院院士 浙江工业大学校长)

主 任:梅汝鸿

副主任:王金生 王慧敏 刘大群

委 员:沈寅初 梅汝鸿 李善祥 王金生 王慧敏 刘大群

徐恩光 罗 宽 张青文 薛德林 吴元华 周而勋 王永卫

杜煜光 李育中 王 琦

三、会议时间和地点

2002年3月18—21日,3月18日全天报到。会议地点在江苏省苏州市长城大厦,位于苏州市广济路233号,距离苏州火车站1公里,可乘公交车7路、游5路至新民桥站下车。

四、会议收费

每位代表需缴会务费1300元(含食宿、资料费等)。各产品和技术展示单位另交展示服务费2000元。

五、会议回执

本次会议由中国腐植酸工业协会承办,与会代表请于2002年2月28日前将会议回执寄至北京西城区六铺炕一区中街1号中国腐植酸工业协会收(邮编100011),电话010—62049762;传真62073432;也可通过电子邮件(humicacid@sohu.com或wangqi@mail.cau.edu.cn)发送。如有的代表在接到预通知后已经寄回执的,可不再寄回执。

如部分科研单位准备的论文还在撰写之中,可按预通知的要求于2002年2月28日前寄会务组。