

文章编号:1001-7380(2016)03-0009-03

辛硫磷和氟虫腈对杨树多酚氧化酶活性的影响

涂慧珍,王 硕*,汤 方**

(南京林业大学南方现代林业协同创新中心,江苏 南京 210037)

摘要:该文利用药剂喷洒法研究了不同质量浓度辛硫磷和氟虫腈对杨树多酚氧化酶(PPO)活性的影响。结果表明 200,400 mg/L 辛硫磷和氟虫腈处理杨树 24,48,72 h,以及 800 mg/L 辛硫磷和 100 mg/L 氟虫腈处理杨树 24,48 h,均明显诱导杨树 PPO 活性增强;而 800 mg/L 辛硫磷和 100 mg/L 氟虫腈处理杨树 72 h,对杨树 PPO 没有显著影响。此研究为杨树害虫的防治和杨树的保护提供理论基础。

关键词:辛硫磷;氟虫腈;多酚氧化酶;杨树

中图分类号:S763.3 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2016.03.003

Effect of phoxim or fipronil spray on polyphenol oxidase activity in poplar leaves

TU Hui-zhen, WANG Shuo*, TANG Fang**

(Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The effect on polyphenol oxidase (PPO) activity by phoxim and fipronil was studied in poplar. The results showed that PPO activity was induced in poplars treated by 200 and 400 mg/L of two pesticides (phoxim and fipronil) for 24, 48 and 72 h, and PPO activity was induced in poplars treated by 800 mg/L phoxim or 100 mg/L fipronil for 24 and 48 h, while PPO activity was the same to the control in poplars being treated by 800 mg/L phoxim or 100 mg/L fipronil for 72 h. This research provides a theoretical basis for the pest control and protection of poplars.

Key words: Phoxim; Fipronil; Polyphenol oxidase; Poplar

在农林业中,防治作物有害生物的化学药剂有着非常广泛的应用,但在防治有害生物的同时,化学药剂对植物体内生理生化状态的影响亦趋明显^[1-3]。

多酚氧化酶(Polyphenol oxidase, PPO)分布广泛,存在于植物、真菌和昆虫质体中,是一类由核基因编码,能与铜相结合的金属蛋白酶。多酚氧化酶对植物的抗病性起着重要的作用。病原菌侵染导致植物体内多酚氧化酶活性的增高,从而积累大量的酚类化合物并形成醌,由醌的次生反应所产生的黑色素痂能防止感染扩散;同时,酚类化合物还是细胞木质素形成的前提,进而促进细胞壁以及组织的木质化,以抵抗病原菌的侵染^[4-8]。现已发现在

水稻、烟草、棉苗和苹果中 PPO 对各种病菌及昆虫的抗性都起到了重要作用^[4]。

近年来,药剂对 PPO 的影响得到广泛的关注与深入的研究^[3,9-10]。但辛硫磷与氟虫腈对杨树 PPO 的影响研究未见报道,本文详细研究了这 2 种药剂对杨树 PPO 的影响,为害虫防治及杨树保护提供试验依据。

2 材料与方法

2.1 供试材料

2.1.1 供试苗木 将南林 895 杨幼苗剪成长 12-20 cm 左右的小段,在水中浸泡 2-3 d,将茎段扦插

收稿日期:2016-03-31;修回日期:2016-05-09

基金项目:国家自然科学基金项目“杨小舟蛾取食诱导杨树防御机制的研究”(30972376)和江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

第1作者:涂慧珍(1990-),女,安徽安庆人,硕士研究生。研究方向:森林保护。E-mail:451757118@qq.com。

并列第1作者*:王 硕(1991-),女,江苏徐州人,大学本科。研究方向:森林保护。E-mail:394336124@qq.com。

**通信作者:汤 方(1976-),女,教授,博士。主要从事森林保护研究工作。E-mail:tangfang76@njfu.com.cn。

于直径 28 cm,盛有混合土(普通土和营养土)的塑料花盆中,只露 2-3 颗芽在土外,每盆 3 个茎段,并在室外培养,每 14 d 喷洒 1 次营养液。

2.1.2 供试化学试剂 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)、考马斯亮蓝 G-250 和邻苯二酚购自 Sigma 公司。99% 辛硫磷原药购自天津农业股份有限公司,90% 氟虫腈原药购自安徽华星化工股份有限公司。

2.2 试验方法

2.2.1 杨树的处理 本次试验使用药剂喷洒法,先将辛硫磷和氟虫腈原药分别用少量丙酮溶解,然后用蒸馏水各配成质量浓度为 800, 400, 200, 100 mg/L 的药剂;随机选取无病虫害,健康且生长势基本相同 60-80 cm 左右的杨树苗为样株,用喷雾器均匀喷施,每株杨树苗木喷施 25 mL 药剂,每种药剂每个质量浓度做 3 株,为 1 次重复,重复 3 次,并以清水处理为对照。于施药后 24, 48, 72 h 分别取样,样株放置 -80 ℃ 超低温冰箱备用。

2.2.2 酶液的提取 称取 0.1 g 新鲜杨树叶材料,加入 0.01 g PVPP,液氮研磨后,加入 1.5 mL pH7.5 的磷酸缓冲液,匀浆在 4 ℃、16 400 r/min 离心 20 min,取上清作为酶液。

2.2.3 酶活测定 参照 Vanitha and Umesha (2011) 等的方法^[11] 稍作改动,反应体系(3 mL):酶液 50 μL、反应底物 400 μL、反应液(pH 4.0) 2.55 mL。用波长 420 nm,动力学驱动 1 min 后读数。

2.2.4 蛋白质含量的测定 参考 Bradford (1976) 考马斯亮蓝 G-250 法^[12]。采用 3 mL 的反应体系。对照缓冲液 500 μL,考马斯亮蓝 2.5 mL。处理缓冲液和酶液共 500 μL。在 595 nm 处测定 OD 值,以牛血清蛋白(BSA)作标准曲线。

2.2.5 多酚氧化酶(PPO)比活力的计算 PPO 酶活以每分钟变化 0.1 的酶量为 1 个酶活力单位(U)。

$\text{PPO 比活力} = \text{PPO 酶活} / \text{对应的蛋白含量}$

2.3 统计方法

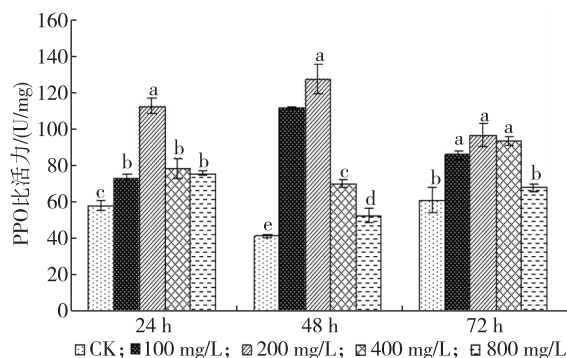
利用 GraphPad InStat version 3.00 软件进行统计分析。

3 结果与分析

3.1 辛硫磷对杨树 PPO 活性的影响

结果表明,辛硫磷对杨树 PPO 活性具有明显的剂量效应(见图 1)。用不同质量浓度辛硫磷处理杨树同一时间对其 PPO 的影响不同。用 100, 200, 400, 800 mg/L 辛硫磷处理杨树,24 h 时 PPO 活性均呈显

著性增加,其中以 200 mg/L 的辛硫磷诱导效果最为显著,PPO 比活性升高近 2 倍;48 h 后,各处理的杨树苗中 PPO 活性仍呈显著性增加,以 200, 400 mg/L 的辛硫磷诱导效果最为显著,PPO 活性提高了 3-4 倍;72 h 时 PPO 活性受 100, 200, 400 mg/L 的辛硫磷诱导效果均较明显。从结果分析看,杨树苗的 PPO 活性受低质量浓度辛硫磷诱导效果更为显著。



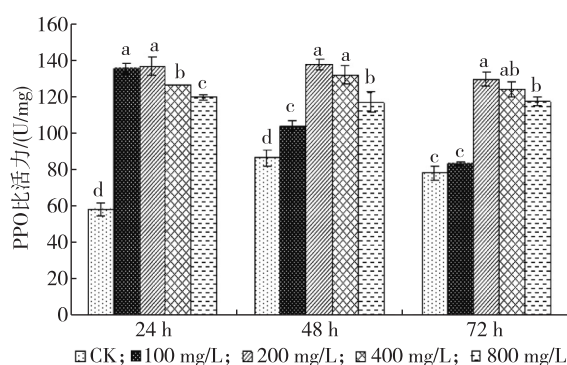
同一时间下在柱形图上方标注不同字母

表明差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 辛硫磷对杨树 PPO 活性的影响

3.2 氟虫腈对杨树 PPO 活性的影响

从结果(见图 2)看出,氟虫腈对杨树 PPO 活性具有明显的剂量效应。不同质量浓度氟虫腈处理杨树同一时间对其 PPO 的影响不同。100, 200, 400, 800 mg/L 氟虫腈处理杨树,24 h 时 PPO 活性均呈显著性增加,各质量浓度诱导均使 PPO 活性大幅增加,为 2-3 倍;48 h 后,各质量浓度处理氟虫腈的杨树苗中 PPO 活性仍呈显著性增加,以 200, 400 mg/L 诱导效果最为显著;72 h 时 PPO 活性受 200, 400, 800 mg/L 的氟虫腈诱导效果均较显著,低质量浓度氟虫腈处理并没有明显的诱导作用。



同一时间下在柱形图上方标注不同字母

表明差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 氟虫腈对杨树 PPO 活性的影响

4 讨论

辛硫磷和氟虫腈作为林业重要杀虫剂得到了广泛的使用与研究。本文试图研究在杨树害虫的防治中使用辛硫磷和氟虫腈这2种药剂对杨树PPO的活性的影响,以期杀虫剂更为安全有效的使用提供理论基础。

此研究表明辛硫磷和氟虫腈可以诱导杨树PPO活性,已有大量研究表明PPO与植物抗虫抗病性有密切的关系^[4-8]。因此,辛硫磷和氟虫腈不仅能直接对害虫起毒杀作用,还能通过诱导PPO活性影响杨树的生理生化活性,从而提高杨树对害虫的抗性。但这一推测还需进一步试验加以验证。

参考文献:

- [1] 徐郭明,马志卿,冯俊涛,等.毒死蜱和鬼臼毒素对蔬菜上海青抗氧化酶系及丙二醛的影响[J].农业环境科学学报,2004,23(6):1089-1092.
- [2] 吴进才,许俊峰,冯绪猛,等.稻田常用农药对水稻三个品种生理生化的影响[J].中国农业科学,2003,36(5):536-541.
- [3] 王业霞,史雪岩,梁 沛,等.三种内吸性杀虫剂对棉花多酚氧化酶和羧酸酯酶活性的影响[J].农药学学报,2006,18(4):319-322.
- [4] 王曼玲,胡中立,周明全,等.植物多酚氧化酶的研究进展[J].植物学通讯,2005,22(2):215-222.
- [5] 贺立红,宾金华.高等植物中的多酚氧化酶[J].植物生理学通讯,2001,37(4):340-345.
- [6] 李 斌,黎秋华,杨宏伟,等.植物多酚氧化酶分子生物学研究进展[J].广东茶业,2003(4):25-28.
- [7] 黄 明,彭世清.植物多酚氧化酶研究进展[J].广西师范大学学报(自然科学版),1998,16(2):65-70.
- [8] 赵伶俐,范崇辉,葛 红,等.植物多酚氧化酶及其活性特征的研究进展[J].西北林学院学报,2005,20(3):156-159.
- [9] 王丽红,高希武.甘蓝多酚氧化酶的生物化学性质及其杀虫剂的诱导作用[J].农药学学报,2004,6(4):33-37.
- [10] 汤 方,赵文亮,左胜涵,等.农药胁迫对杨树多酚氧化酶的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2012,36(6):81-84.
- [11] VANITHA S C, UMESHA S. *Pseudomonas fluorescens* mediated systemic resistance in tomato is driven through an elevated synthesis of defense enzymes [J]. *Biologia Plantarum*, 2011, 55(2):317-322.
- [12] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976(72):248-254.
- [13] 吴 娜,周怀军,肖 芳.3种常绿阔叶植物越冬期间叶片水分及可溶性糖的动态变化[J].西北林学院学报,2006,21(4):36-38.
- [14] 何开跃,李晓储,黄利斌,等.3种含笑耐寒生理机制研究[J].南京林业大学学报(自然科学版),2004,28(4):62-64.
- [15] 牛立新,贺普超.葡萄抗寒性三种鉴定方法的比较研究[J].葡萄栽培与酿酒,1993(2):5-7.
- [16] 王松华,周阮宝.三叶期前水稻幼苗抗寒生理研究[J].安徽农业技术师范学院学报,1998,12(3):15-18.
- [17] YELENOSKY G. Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young trees in controlled temperature regimes [J]. *Plant Physiology*, 1979(64):425-427.
- [18] 梅俊学.逆境下发菜脯氨酸含量及质膜透性的变化与含水量的关系[J].山东师范大学学报,2000,15(2):178-181.
- [19] HARE P D, CRESS W A, VAN STADEN J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress[J]. *Plant Cell & Environment*, 1998,21(6):535-553.
- [6] 冯楠楠.6种绣线菊(*Spiraea* Linn.)抗寒能力的比较研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2008.
- [7] 陈禹兴,付连双,王晓楠,等.低温胁迫对冬小麦恢复生长后植株细胞膜透性和丙二醛含量的影响[J].东北农业大学学报,2010,41(10):10-16.
- [8] 郝建军,康宗利.植物生理学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2006:23-169.
- [9] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006.
- [10] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版公司,2005.
- [11] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [12] 周德宝.不同披碱草抗寒性的研究[J].阴山学刊,1996(S1):36-39.

(上接第8页)