

15%噁霜福种衣剂对西瓜幼苗生长及其抗病性相关酶活性的影响

吴学宏 刘西莉 刘鹏飞 周立刚 王红梅 李健强

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100094)

摘要 测定了15%噁霜福种衣剂包衣西瓜种子后种子的发芽率及幼苗生长发育的几项指标。结果表明,种衣剂包衣对种子发芽率以及幼苗的子叶长、子叶宽和株高无显著影响;使幼苗主根长、须根数和百株鲜重分别增加了15%、22%和7%,植株体内丙二醛的积累量下降了59%,可溶性蛋白含量增加了17%,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和多酚氧化酶(PPO)的活性分别提高了46%、43%、31%和57%,差异显著。说明种衣剂处理西瓜种子后发芽安全,并能促进幼苗生长,提高抗病性相关酶的活性。

关键词 15%噁霜福悬浮种衣剂;西瓜;生长发育;抗病性相关酶

中图分类号 S 432.32

文章编号 1007-4333(2003)03-0061-04

文献标识码 A

Effect of 15 % Hymexazol-Metalaxyl-Thiram seed coating formulation on the growth of watermelon seedlings and disease resistance-related enzymes

Wu Xuehong, Liu Xili, Liu Pengfei, Zhou Ligang, Wang Hongmei, Li Jianqiang

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract To examine the effect of the 15 % Hymexazol - Metalaxyl - Thiram seed coating formulation on watermelon seeds, this study was done on their germination, growth and development of the seedlings. The results showed that the germination rate of seeds, length and width of cotyledon and height of seedlings were not significantly different, compared with these of uncoated seeds. However, the length of roots was 15 % longer, 22 % more sideroots was observed in coated seeds and the weight of one hundred fresh seedlings rose 7 %, after being treated. Moreover, accumulated content of Malondialdehyde (MDA) decreased by 59 % and content of soluble protein increased by 17 % through the coating treatment. Importantly, the activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and polyphenoloxidase (PPO) in the seedlings were stimulated evidently, they were 46 %, 43 %, 31 % respectively, and 57 % higher than those of the untreated. It is concluded that the germination of watermelon seeds treated by the chemical was safe, the growth and development of seedlings were promoted and the activity of disease resistance - related enzymes was also increased after being treated.

Key words 15 % Hymexazol-Metalaxyl-Thiram seed coating formulation; watermelon; growth and development; disease resistance-related enzymes

植物在遭受逆境胁迫时体内产生过量 O_2^- 、 OH^- 、 O_2 和 H_2O_2 自由基而造成胁迫伤害^[1]。植物体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是细胞抵御活性氧伤害的酶系统的主要成员,在清除自由基、阻止自由基的形成和延缓

植物衰老等方面起着重要作用:SOD酶主要清除超氧阴离子(O_2^-)成 H_2O_2 ;POD酶和CAT酶主要还原 H_2O_2 为 H_2O ^[2];多酚氧化酶(PPO)参与植物体内酚类物质氧化形成醌的保护反应使一元酚和二元酚氧化生成木质素、植保素等,从而使植物产生对病原侵

收稿日期:2002-11-29

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30070864)

作者简介:吴学宏,助理研究员;李健强,教授,联系作者,主要从事种子病理药理学研究

染的防卫反应和提高植物抗病性^[3]。这些酶的活性高低密切影响着植物抵抗病害等逆境胁迫的能力^[4-5]。另一方面,丙二醛(MDA)是脂质过氧化的主要产物之一,它的积累是活性氧(AO)毒害作用的表现,是膜脂过氧化作用的指标^[6]。

国内关于种衣剂对植物幼苗抗病性相关酶活性影响的研究明确了植物抗逆机理。例如:洛农1号(未注明有效成分)、17%咪多酮(有效成分为咪喃丹、多菌灵和三唑酮)、噁醚唑种衣剂包衣小麦种子、1号、2号、3号种衣剂(均未注明有效成分)包衣玉米种子及20%克福·甲(有效成分为克百威、福美双和甲基立枯磷)包衣水稻种子等能促进幼苗生长发育,使某些与抗病性有关的酶如SOD、POD、CAT和PPO的活性提高10%以上^[7-10]。但关于种衣剂处理西瓜种子对幼苗生长发育及抗病性相关酶活性的影响未见系统报道。本文拟就已经商业化并在西瓜种子标准化生产实践中推广应用的15%噁·霜·福悬浮种衣剂包衣西瓜种子,研究幼苗生长情况及某些抗病性相关酶的活性变化,旨在探讨其防病保苗机制。

1 材料和方法

1.1 供试材料

西瓜(*Citrullus lanatus*)品种兴农一号,北京航兴农业技术服务中心提供;供试药剂15%噁·霜·福悬浮种衣剂(噁霉灵3%、甲霜灵2%、福美双10%,以下简称种衣剂)由中国农业大学种衣剂中心提供。

1.2 种子包衣处理及安全性试验

设3个处理:15%噁·霜·福种衣剂分别按照1:30、1:40、1:50药种比包衣西瓜种子;未包衣种子作对照。然后将处理过的种子在阴凉干燥处放置14 d,用湿砂芽床法^[11]进行发芽试验,每皿(φ20 cm)播种50粒,4个重复。放置于30~32℃恒温箱中培养,3 d调查发芽势,7 d调查发芽率。

1.3 西瓜幼苗生长情况

将包衣14 d后的种子播于灭菌的砂土盘内,放于25~28℃生长间培养,光照12 h·d⁻¹,每日浇灌Hoagland营养液。每处理4个重复,每个重复100粒种子。出苗后10 d将幼苗拔出清洗干净。每个重复取25株西瓜幼苗,测定子叶长、子叶宽、根长、须根数、株高和百株鲜重。

1.4 抗病性相关酶活性的测定

酶液的提取 以上每个重复取5.0 g幼苗叶茎

材料,加入预冷的50 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH7.8)25 mL,冰盐浴中用组织捣碎机25 000 r·min⁻¹捣碎3 min,0~4℃下高速冷冻离心机18 000 r·min⁻¹离心20 min,取上清液为粗酶液。

丙二醛(MDA)含量测定^[12] 取粗酶液1.5 mL,加入0.5%的硫代巴比妥酸(TBA,溶解于20%三氯乙酸)2.5 mL,在沸水浴保温30 min后立即冷却,4 000 r·min⁻¹离心20 min,取上清液在450、532和600 nm下测定吸光度(A)值,计算MDA含量:MDA(μmol·L⁻¹)=6.45(A₅₃₂-A₆₀₀)-0.56A₄₅₀

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 采用氯化硝基氮蓝四唑(NBT)光还原法测定SOD活性^[13]。在3.02 mL反应系统中含有:13 mmol·L⁻¹的甲硫氨酸(Met)2.7 mL、75 μmol·L⁻¹的NBT 0.1 mL、0.1 μmol·L⁻¹的EDTA 0.1 mL、2 μmol·L⁻¹的核黄素(VB₂) 0.1 mL及20 μL粗酶液。反应系统在25~4 000 lx光照20 min后再置于黑暗中停止反应,测定吸光度A₅₆₀值,酶活性单位采用抑制NBT光化还原50%的酶量为一个酶活性单位,新鲜材料中酶的比活以U·mg⁻¹·g⁻¹表示。

过氧化物酶(POD)活性测定 在3 mL反应系统中含有:50 mmol·L⁻¹(pH7.8)磷酸缓冲液2.91 mL、20 mmol·L⁻¹的愈创木酚50 μL、40 mmol·L⁻¹的H₂O₂ 20 μL以及20 μL粗酶液。加入H₂O₂启动反应,在17℃下测定5 min内A₄₇₀值的变化。以每分钟A₄₇₀增加0.01为一个酶活单位,新鲜材料中酶的比活以U·min⁻¹·g⁻¹表示。

过氧化氢酶(CAT)活性测定^[14] 在3.06 mL反应系统中含有:50 mmol·L⁻¹(pH7.8)磷酸缓冲液3 mL、30%的H₂O₂ 10 μL和50 μL粗酶液。加入H₂O₂启动反应,在17℃下测定2 min内A₂₄₀值的变化。以每分钟每克样品A₂₄₀改变0.01为一个酶活单位,新鲜材料中酶的比活以U·min⁻¹·g⁻¹表示。

多酚氧化酶(PPO)活性测定^[15] 在3.12 mL反应系统中含有:50 mmol·L⁻¹(pH7.8)磷酸缓冲液3.0 mL、100 mmol·L⁻¹的邻苯二酚20 μL和100 μL粗酶液。加入邻苯二酚启动反应,在17℃下测定10 min内A₅₂₅值的变化。以每分钟A₅₂₅增加0.01为一个酶活单位,新鲜材料中酶的比活以U·min⁻¹·g⁻¹表示。

可溶性蛋白含量测定 取粗酶液直接测定吸光度A₂₈₀和A₂₆₀,计算蛋白质含量:蛋白质含量(mg·

$$\text{mL}^{-1}) = 1.55A_{280} - 0.76A_{260}$$

2 结果与分析

2.1 种衣剂包衣处理对西瓜种子发芽和幼苗生长发育的影响(表 1)

室内发芽试验表明,种衣剂包衣处理后西瓜种子发芽势和发芽率与对照相比增减幅度均在 $\pm 5\%$ 范围内,符合“主要农作物包衣种子技术条件(GB15671-1995)”中关于种衣剂处理对种子发芽安

全指标的规定;3 个药种比中 1 50 包衣种子的发芽势和发芽率为最高,分别比对照提高 1% 和 2%。由此可见,种衣剂用于种子处理后对种子的发芽安全。

种衣剂处理显著提高西瓜了幼苗的主根长、须根数、百株鲜重等,方差分析表明比对照差异显著。处理比对照的子叶长、子叶宽和株高有提高,但差异不显著。

表 1 种衣剂包衣处理对西瓜种子发芽和幼苗生长发育的影响(10 d 苗)
Table 1 Effect of seed coating formulation on watermelon seed germination and growth of watermelon seedlings(10 d)

药种质量比	发芽势/ %	发芽率/ %	子叶长/ cm	子叶宽/ cm	主根长/ cm	须根数/ 条	株高/ cm	百株鲜重/ g
1 30	89.0 a	91.0 a	1.47 a	0.94 a	8.50 a	6.3 a	12.11 a	43.02 a
1 40	91.0 a	92.0 a	1.54 a	1.03 a	8.39 a	5.3 a	12.04 a	41.72 a
1 50	96.0 a	97.0 a	1.50 a	0.92 a	9.03 a	6.0 a	12.09 a	40.13 ab
CK	94.0 a	95.0 a	1.41 a	0.93 a	7.63 b	4.9 b	11.62 a	39.83 b

相同字母的同列数据在 $P_{0.05}$ 下无显著差异。下同。

2.2 种衣剂对西瓜幼苗可溶性蛋白含量、MDA 含量及抗病性相关酶活性的影响(表 2)

种衣剂处理比对照幼苗可溶性蛋白含量差异明显。其中药种比 1 40 的处理使幼苗可溶性蛋白含量明显提高。

种衣剂处理后,幼苗 MDA 的积累明显低于对照。表明种衣剂处理降低了膜脂过氧化程度,由此可减轻西瓜植株生长过程中自由基造成的膜伤害,提高细胞膜系统的稳定性。

表 2 种衣剂对西瓜幼苗几项抗病性相关酶活性的影响
Table 2 Effect of seed coating formulation on activity of some disease - related enzymes in watermelon seedlings

药种质量比	可溶性蛋白/ (mg g^{-1})	丙二醛 MDA/ ($10^{-3} \mu\text{mol g}^{-1}$)	超氧化物歧化酶 SOD/ ($\text{U mg}^{-1} \text{g}^{-1}$)	过氧化物酶	过氧化氢酶	多酚氧化酶
				POD	CAT	PPO
				(U $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$)		
1 30	11.56 a	0.337 c	758.98 a	46.25 b	455.0 a	3.83 a
1 40	11.99 a	0.526 b	662.33 b	60.40 a	450.0 a	4.67 a
1 50	11.60 a	0.561 b	601.26 b	45.85 b	388.4 b	3.83 a
CK	9.98 b	0.820 a	410.13 c	34.15 c	313.4 b	2.00 b

种衣剂处理后西瓜幼苗 SOD 活性明显高于空白对照,3 种处理中,1 30 包衣处理的西瓜幼苗 SOD 活性明显高于另外 2 个包衣处理。

种衣剂处理的幼苗 POD、CAT 的活性均显著高于对照,其中按照 1 40 包衣时西瓜幼苗 POD 的活性最高,按照 1 30 包衣的西瓜幼苗 CAT 的活性最高。

与对照相比,种衣剂处理能明显增强 PPO 的活性,且种衣剂 1 40 包衣浓度处理的幼苗 PPO 活性高于其他 2 个处理。

3 结论与讨论

15% 噁霜福悬浮种衣剂包衣西瓜种子后对种子发芽安全并促进幼苗生长发育,增强西瓜幼苗 SOD、POD、CAT、PPO 等与抗病性相关酶的活性,提高了可溶性蛋白的含量,降低了 MDA 的积累量。其中药种比 1 40 的处理对可溶性蛋白、POD 和 PPO 的影响最为显著,1 30 处理对上述其他酶活性的影响较大。

种衣剂包衣后增强抗病性相关酶的活性,可能

是因配方中含有的杀菌剂、植物生长调节剂和微量元素等有效组分激活了植株的自由基清除活性,加速了与抗逆有关的代谢过程,诱导幼苗产生抗病性;当然种衣剂中的微肥为幼苗提供营养也间接增强了幼苗的抗病能力。

通常在安全用量范围内,药剂包衣用量越高,病害防治效果越好,同时对种子发芽及幼苗生长发育的促进作用也越大。但诱导因子(如水杨酸、乙烯等)的作用时间、浓度和方式对不同抗病性相关酶的表达强度和活性的影响不同^[16]。本试验也证明种衣剂使用浓度不相同对不同抗病性相关酶的诱导存在差异:对可溶性蛋白、POD 和 PPO,药种比 1:40 是最佳包衣用量,而其他几种酶以 1:30 包衣处理的效果较好。

室内研究种衣剂包衣西瓜种子对幼苗抗病性相关酶活性的影响得出了抗病性提高的初步证据,这个初步结论还需经田间试验进行验证。同样,包衣西瓜种子接种枯萎病菌等致病菌条件下,探讨幼苗抗病性相关酶的活性影响与西瓜植株抗病性关系也具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 宋凤鸣,郑重,葛秀春. 活性氧和膜脂过氧化在植物—病原物互作中的作用 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(5): 377~385
- [2] 邱金龙,金巧玲,王钧. 活性氧与植物抗病性反应 [J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(1): 56~63
- [3] 张欣. 与植物抗病性有关酶的研究进展 [J]. 华南热带农业大学学报, 2000, 6(1): 41~46
- [4] 冯文新,韩占芳,王玉国,等. 钙浸种对小麦幼苗保护酶活性及膜功能的影响 [J]. 麦类作物, 1997, 17(3): 31~33
- [5] Mehdy M C. Active oxygen species in plant defense against pathogens [J]. Plant Physiol, 1994, 105: 467~472
- [6] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害 [J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(2): 84~90
- [7] 史国安,付国占,刘丰明. 种衣剂对小麦幼苗膜脂过氧化及某些酶活性的影响 [J]. 麦类作物, 1997, 17(4): 62~64
- [8] 王锋,高仁君,李健强,等. 噁唑啉种衣剂对小麦幼苗生长及抗病性相关酶活性的影响 [J]. 植物病理学报, 2000, 30(3): 213~216
- [9] 王晓丽,荀琳. 种衣剂对玉米幼苗某些酶活性及苗体生长的影响 [J]. 种子, 2000, 107(1): 18~20
- [10] 刘西莉,李健强,刘鹏飞,等. 浸种专用型水稻种衣剂对水稻秧苗生长及抗病性相关酶活性的影响 [J]. 农药学学报, 2000, 2(2): 41~46
- [11] 刘素萍. 西瓜种子发芽方法介绍 [J]. 北京农业, 1995, 3: 18
- [12] 赵世杰,许长成,邹琦,等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进 [J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207~210
- [13] Bewley J D. Physiological aspects of desiccation tolerance [J]. Ann Rev Plant Physiol, 1979, 30: 195~238
- [14] Kraus T E, Fletcher R A. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury [J]. Plant Cell Physiol, 1994, 35(1): 45~52
- [15] 朱广廉,钟海文,张爱琴. 植物生理学实验 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1990. 37~40
- [16] 洪剑明,邱泽生,柴晓清. 植物的诱导抗病性 [J]. 植物学通报, 1997, 14(2): 23~29