

一种含噻二唑的酰基脲类化合物(TAU)对大豆种子萌发及幼苗生理活性的影响

詹秀环¹, 常云霞², 陈 龙², 王子云¹

(1. 周口师范学院 化学系; 2. 周口师范学院 生命科学系, 河南 周口 466000)

摘 要: 利用不同浓度(6、8、10、12、14 mg·L⁻¹)的 N-[5-(2-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-N'-[2-(2-甲基苯氧)乙酰基]脲(TAU)分别对野生和栽培大豆进行浸种和苗期水培处理, 考察了 TAU 对大豆种子萌发及幼苗生理活性的影响。结果表明: 不同浓度 TAU 处理后, 野生和栽培大豆的发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数、幼苗根系活力以及叶片中叶绿素含量、可溶性蛋白含量均高于对照, 说明 TAU 处理对大豆种子萌发及幼苗生长具有促进效应, 其中以 12 mg·L⁻¹TAU 处理效果最好。

关键词: 1,3,4-噻二唑; 大豆; 种子萌发; 幼苗生理活性

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2011)06-0932-04

Effects of a Acyl Urea Compound Contained Thiadiazole on Germination and Seedling Physiological Activity of Soybean

ZHAN Xiu-huan¹, CHANG Yun-xia², CHEN Long², WANG Zi-yun¹

(1. Department of Chemistry, Zhoukou Normal University; 2. Department of Life Science, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466000, Henan, China)

Abstract: Effects of N-[5-(2-chlorophenyl)-1,3,4-thiadiazole-2-yl]-N'-[2-(2-methoxyphenoxy) acetyl] urea (TAU) on the germination and seedling physiological activity of *Glycine soja* and *Glycine max* were evaluated by water culture tests with different concentrations of TAU (6, 8, 10, 12 and 14 mg·L⁻¹). The results showed that in TAU treatments, the germination percentage, germination viability, germination index, activity index, root activity of soybean seedlings, the content of chlorophyll and soluble protein were increased compared with control. The results indicated that the germination and growth of soybean seedlings increased significantly after TAU treatment, and 12 mg·L⁻¹ was the optimal concentration.

Key words: 1,3,4-thiadiazole; Soybean; Seed germination; Seedling physiological activity

在生产实践中,大豆幼苗的发育状况,决定着个体和群体发育的质量,并影响作物以后的生长和产量^[1]。野生大豆是一年生豆科草本植物,由于野生大豆与栽培大豆杂交亲和性高、遗传物质易交流,被广泛应用于栽培大豆育种研究,但野生大豆发芽率低一直是困扰科学工作者的一大难题。N-[5-(2-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-N'-[2-(2-甲基苯氧)乙酰基]脲(TAU)是一种新合成的含噻二唑环的芳酰基脲类化合物,通过小麦胚芽鞘法和黄瓜子叶法^[2]测知 TAU 具有与 IAA 和 KT 相似的功效。这类噻二唑衍生物因具有较好的杀虫、抗病、除草及植物生长调节等功效而备受化学及农学工作者的青睐^[3-6],但有关噻二唑衍生物对豆类植物生长的影响还鲜有报道,该研究以野生大豆和栽培大豆为材料,初步研究了 N-[5-(2-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-N'-[2-(2-甲基苯氧)乙酰基]脲

(TAU)对大豆种子萌发及幼苗生理活性的影响,以期 TAU 在农业上的应用提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

野生大豆 XYSC 种子采自信阳商城山区,种皮黑色。栽培大豆豫豆 22 由周口种子公司提供。所用试剂氨基硫脲、DMF、DMSO、2-甲基苯酚、1,4-二氧六环、2-氯苯甲酸、二氯亚砷、对甲基苯酚、氯乙酸、1,2-二氯乙烷、氨水、乙腈等均为分析纯或化学纯,用前进行无水处理。WQF-510 红外光谱仪(北京瑞利分析仪器公司, KBr 压片); Vario EL III (CHNS)元素分析仪(德国 elementar 公司); X-6A 精密显微熔点测定仪(北京福凯仪器有限公司,温度计未校正)。

收稿日期:2011-07-27

基金项目:河南省教育厅自然科学研究计划资助项目(2007150050, 2009B150030, 2011B180057)。

第一作者简介:詹秀环(1964-),女,副教授,主要从事环境化学和精细有机合成研究。E-mail: zhanxiuhuan@126.com。

通讯作者:王子云(1963-),男,教授,主要从事精细有机合成研究。E-mail: zksywy@163.com。

1.2 试验方法

1.2.1 TAU 的合成 试验所用 N-[5-(2-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-N'-[2-(2-甲基苯氧)乙酰基]脲(TAU)由周口师范学院化学系合成。合成方法:2.6 g 氨基硫脲,13 mL 1,4-二氧六环和 3.92 g 2-氯苯甲酸,搅拌下慢慢滴加 2.5 mL 三氯氧磷,回流 4 h,反应完成后减压蒸馏出 1,4 二氧六环,加入 16 mL 水,用 50% 氢氧化钠溶液中和调整其 pH 至 9,冷却,过滤,水洗,烘干后得 5-(2-氯苯基)-2 氨基-1,3,4-噻二唑。

将 6.5 g 2-甲基苯酚钠与 8.7 g 氯乙酸钠溶于 30 mL 水中,在 pH=7~8 的条件下,搅拌加热回流反应 4~5 h,冷却至室温,用盐酸调节 pH=1~2,静置沉淀,抽滤得 2-甲基苯氧乙酸。

5.8 g 2-甲基苯氧乙酸,与过量 100% 的 SOCl_2 反应制得 2-甲基苯氧乙酰氯,再与过量 50% 的氨水反应得 2-甲基苯氧乙酰胺。

在 1,2-二氯乙烷溶剂中,1.65 g 2-甲基苯氧乙酰胺和 2.54 g 草酰氯回流至无氯化氢放出,减压除尽 1,2-二氯乙烷和未反应的草酰氯,得棕黄色油状 2-甲基苯氧乙酰基异氰酸酯透明液体。后者再与 1.31 g 5-(2-氯苯基)-2-氨基-1,3,4-噻二唑在非质子极性溶剂乙腈中反应得 N-[5-(2-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-N'-[2-(2-甲基苯氧)乙酰基]脲(TAU),粗产物用 DMSO-水重结晶,得黄色固体,收率为 65.2%,熔点为 256~258℃。其元素分析数据(理论值%、试验值%、相对误差%)为 N(13.88、13.81、5.0);C(53.53、53.72、3.5);H(3.97、3.99、5.0);S(7.93、7.96、3.8);其红外光谱(IR)特征频率为 $\nu_{(\text{N-H})}$ 3239 cm^{-1} 、3140 cm^{-1} ; $\nu_{(\text{C=O})}$ 1706 cm^{-1} 、1639 cm^{-1} ; $\nu_{(\text{C-N})}$ 1303 cm^{-1} ; $\nu_{(\text{Ar})}$ 1595 cm^{-1} 、1523 cm^{-1} 、1438 cm^{-1} 、1384 cm^{-1} ; $\nu_{(\text{C-H})}$ 2919 cm^{-1} ; 755 cm^{-1} 处的峰为邻位二取代峰。通过元素分析和红外光谱,初步确认了目标化合物的结构。

1.2.2 材料处理 分别取粒大饱满的野生和栽培大豆种子,用 0.1% HgCl_2 表面消毒 7 min,去离子水反复冲洗,在 30℃ 的去离子水中浸泡 48 h,将已经浸过种的大豆种子均匀播种于加有 2 层纱布的 30×20×5(cm)的托盘中,每盘 60 粒,野生和栽培大豆各播种 18 盘,每天上午 9:00 和下午 5:00 向盘中倒入 50 mL 处理液使纱布始终保持湿润,处理液为不同浓度的(6、8、10、12、14 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) N-[5-(2-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-N'-[2-(2-甲基苯氧)乙酰基]脲(TAU)溶液,进行种子萌发与幼苗生长试验,每个浓度 3 次重复,以去离子水培养作为对照

(CK)。培养室为恒温 25℃,光照度 4 000~4 500 lx,光/暗周期为 14h/10h。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 发芽率、发芽势、发芽指数及活力指数的测定 从种子开始萌发到第 5 天发芽基本结束为止,每天统计发芽数(以第一个胚根 ≥ 2 mm(目测)为标准,即为发芽),发芽试验结束后(第 5 天)各处理随机取 10 株幼苗分别测量其根长。按下列公式计算发芽率(GR)、发芽势(GP)、发芽指数(GI)和活力指数(VI):

$$\text{GR} = \text{Gt}/\text{T} \times 100\%$$

$$\text{GP} = \text{Gt}/\text{T} \times 100\%$$

$$\text{GI} = \sum \text{Gt}/\text{Dt}$$

$$\text{VI} = \text{S} \times \text{GI}$$

式中 Gt 为在 t 日内的发芽数(发芽率为第 5 天的统计结果,发芽势为第 3 天统计结果);Dt 为相应的发芽天数;T 为种子总数;S 为发芽第 5 天大豆单株平均胚根长。

1.3.2 生理指标的测定 培养 15 d 后随机取大豆幼苗的完全展开叶和根尖,去离子水反复冲洗,剪碎、混匀,采用丙酮-乙醇提取法测定叶片叶绿素的含量^[7];采用考马斯亮蓝 G-250 法测定叶片可溶性蛋白的含量^[7];采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法测定幼苗根系活力^[8]。

1.4 数据分析

所有数据均取 3 次重复平均值,采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 10.0 进行数据分析和差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 TAU 对大豆种子萌发特性的影响

发芽率是反映植物种子品质优劣的重要指标。由表 1 可知,在试验浓度范围内,随着 TAU 浓度的增加,种子发芽率先升高后降低,浓度为 12 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时发芽率达到最高值,与对照(CK)相比,XYSC 和豫豆 22 的发芽率分别提高了 62.1% 和 16.9% ($P<0.01$)。表明 TAU 处理可以显著提高野生大豆 XYSC 的发芽率。发芽势是表征种子活力的指标,能表明出苗整齐度^[9]。发芽指数是反映种子活力的综合指标,可以表征外界环境对种子萌发的促进情况。由表 1 可以看出,不同浓度 TAU 对大豆种子发芽势、发芽指数和活力指数的影响与发芽率基本一致。当浓度为 12 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,发芽指数和活力指数达到最高值,与 CK 相比,XYSC 和豫豆 22 的发芽指数分别增加了 56.9% 和 22.7% ($P<0.01$),活力指数分别增加了 281% 和 113.8% ($P<0.01$)。

综上,12 mg·L⁻¹的TAU处理的野生和栽培大豆种子,其发芽率、发芽势、发芽指数以及活力指数均最高,这表明12 mg·L⁻¹的TAU对提高种子活力效果最好。

表1 TAU对大豆种子萌发特性的影响

Table 1 Effects of exogenous TAU on germination of soybean seeds

TAU 浓度 TAU concentration /mg·L ⁻¹	发芽率 Germination percentage/%		发芽势 Germinating viability/%		发芽指数 Germination index		活力指数 Activity index	
	XYSC		XYSC		XYSC		XYSC	
	豫豆 22 Yudou22	豫豆 22 Yudou22	豫豆 22 Yudou22	豫豆 22 Yudou22	豫豆 22 Yudou22	豫豆 22 Yudou22	豫豆 22 Yudou22	豫豆 22 Yudou22
0	16.11bC	78.89dC	15.56bD	72.22cB	7.96bB	35.33cD	5.83dD	43.32eE
6	17.22bC	82.22cdBC	16.67bCD	74.44cB	8.82bB	37.26cCD	10.24cC	51.39dD
8	18.33bBC	84.44bcdABC	18.33bBCD	82.22bA	9.28bAB	39.66bBC	11.91cC	66.88cC
10	25.00aA	90.00abAB	24.44aAB	83.33bA	12.14aA	41.01abAB	17.53bB	69.46cBC
12	26.11aA	92.22aA	25.56aA	88.89aA	12.49aA	43.34aA	22.21aA	92.62aA
14	24.44aAB	87.78abcAB	22.78aABC	82.78bA	12.16aA	41.88abAB	18.44bAB	74.21bB

同列数值后不同大小写字母分别代表在0.01和0.05水平差异显著,下表同。

Values in the same column followed by different capital and lowercase letters are significantly different at 0.01 and 0.05 probability level, respectively, the same below.

2.2 TAU对大豆幼苗叶片中叶绿素含量的影响

由表2可知,2个品种大豆幼苗叶片中叶绿素a含量的变化与叶绿素b、总叶绿素含量的变化基本相似,均随TAU处理浓度的增加先增加而后略微降低。TAU处理有效地提高了叶绿素的含量,积累更

多的光合产物,可以为大豆幼苗生长提供更多的营养物质。各处理组以12 mg·L⁻¹处理效果最好,与CK相比,XYSC和豫豆22的叶绿素含量分别增加了42.1%和37.8% ($P < 0.01$)。

表2 TAU对大豆幼苗叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of exogenous TAU on chlorophyll content of soybean seedlings

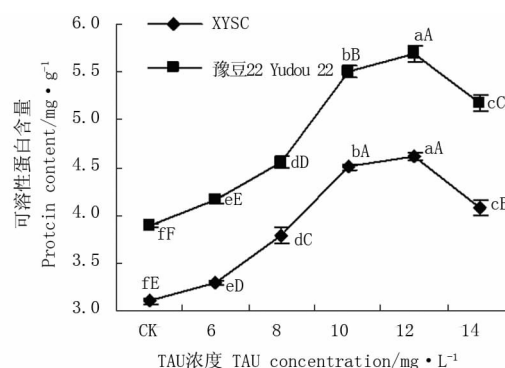
TAU 浓度 TAU concentration /mg·L ⁻¹	叶绿素 a Chlorophyll a content/mg·g ⁻¹		叶绿素 b Chlorophyll b content/mg·g ⁻¹		总叶绿素 Chlorophyll content/mg·g ⁻¹	
	XYSC		XYSC		XYSC	
	豫豆22 Yudou22	豫豆22 Yudou22	豫豆22 Yudou22	豫豆22 Yudou22	豫豆22 Yudou22	豫豆22 Yudou22
0	3.52dC	3.87cC	0.91cC	1.16dD	4.44dD	5.03dC
6	3.89cB	4.11bcBC	0.99cBC	1.33cCD	4.88cCD	5.44cBC
8	3.97cB	4.28bBC	1.06bcBC	1.42bcBC	5.03cBC	5.70bcB
10	4.24bB	4.41bB	1.22abAB	1.56bAB	5.46bB	5.97bB
12	4.92aA	5.18aA	1.38aA	1.75aA	6.31aA	6.93aA
14	4.10bcB	4.31bBC	1.06bcBC	1.47bcBC	5.15bcBC	5.78bcB

2.3 TAU对大豆幼苗叶片可溶性蛋白含量的影响

植物体内可溶性蛋白含量的高低反映了植物体内有关酶的代谢强度和活性水平^[10]。图1表明,与CK相比,2个品种大豆幼苗叶片中可溶性蛋白含量随TAU的浓度先增加而后略微降低,其中以12 mg·L⁻¹处理效果最好,XYSC和豫豆22的可溶性蛋白含量与CK相比分别增加了49.1%和46.2%,并且各处理的叶片可溶性蛋白含量均极显著高于对照($P < 0.01$)。

2.4 TAU对大豆幼苗根系活力的影响

根系活力泛指根系的吸收能力、合成能力和还原能力等,是反映根系生长和功能状态的重要指标^[11]。由图2可知,与CK相比,2个品种大豆幼苗根系活力均随TAU的浓度先增加而后略微降低,其中以12 mg·L⁻¹处理效果最好,XYSC和豫豆22幼



同一折线上数值对应的不同大小写字母分别代表在0.01和0.05水平差异显著,下同。

Values in the same broken line with different capital and lowercase letters were significantly different at 0.01 and 0.05 probability level, respectively, the same below.

图1 TAU对大豆幼苗叶片中可溶性蛋白含量的影响

Fig. 1 Effects of exogenous TAU on protein content in leave of soybean seedlings

苗根系活力与 CK 相比分别增加了 73.2% 和 40.2%, 并且豫豆 22TAU 处理的根系活力均显著高于对照($P < 0.05$), 野生大豆 XYSC 在 TAU 处理下的根系活力均极显著高于对照($P < 0.01$)。

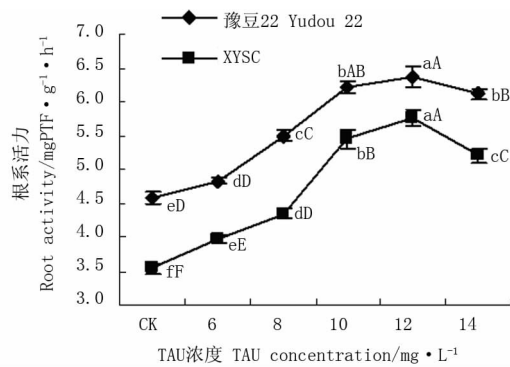


图2 TAU 对大豆幼苗根系活力的影响

Fig. 2 Effects of exogenous TAU on root activity of soybean seedlings

3 结论与讨论

种子的萌发和幼苗的建成是作物生长的关键时期, 种子发芽质量好坏直接影响农作物生长和经济效益^[12], 该研究表明 TAU 处理对大豆萌发具有促进作用, 与 CK 相比, 处理组野生大豆和栽培大豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数以及活力指数均显著增加($P < 0.05$), 原因可能是 TAU 能增加大豆种子萌发过程中淀粉酶、蛋白酶和脂肪酶的活性, 促进呼吸代谢, 从而提高了种子的活力。

大豆在苗期生长过程中, 生长发育的物质和能量来源于光合作用和根系对矿物质的吸收, 所以根系活力、叶绿素含量和可溶性蛋白高低是决定幼苗生长状况良好与否的重要生理指标。该研究结果说明, 施用 TAU 可显著地提高大豆幼苗根系活力, 增加了幼苗吸收营养物质的能力, 对加速幼苗的生长发育提供了物质保障。并且 TAU 也可显著地提高大豆幼苗叶片中叶绿素和可溶性蛋白的含量, 从而提高大豆幼苗的光能利用率和幼苗体内蛋白质含量及酶的活性水平, 为其生长发育提供物质基础, 促进了幼苗的生长发育。

总之, TAU 通过提高大豆种子活力, 提高了幼苗根系活力, 使大豆幼苗叶片中叶绿素和可溶性蛋白含量增加, 促进了大豆幼苗的生长发育, 尤其在处理野生大豆 XYSC 时效果更为明显。统计分析显示, 在各种处理浓度中, 以 12 mg · L⁻¹ 处理效果最佳。

参考文献

[1] 吴鹏, 周青. 大豆种子萌发对镉胁迫响应的观察[J]. 大豆科学, 2009, 28(5): 853-855. (Wu P, Zhou Q. Response of soybean

seed germination to cadmium stress[J]. Soybean Science, 2009, 28(5): 853-855.)

- [2] 汪焱钢, 龚银香, 赵新筠, 等. N-5-四唑基-N'-芳甲酰基脲的合成及其生物活性[J]. 有机化学, 2003, 23(2): 195-197. (Wang Y G, Gong Y X, Zhao X J, et al. Synthesis and biological activity of N-5-tetrazolyl-N'-aryl formyl urea[J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2003, 23(2): 195-197.)
- [3] 董兴高, 颜玲, 宋新建, 等. N-[5-(3-吡啶基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-N'-芳甲酰基脲的合成及抗菌活性[J]. 药学学报, 2007, 42(1): 108-110. (Dong X G, Yan L, Song X J, et al. Synthesis and antimicrobial activity of N-[5-(3-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]-N'-aroyl urea[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2007, 42(1): 108-110.)
- [4] 王子云, 龚银香, 陈传兵, 等. N-[5-(1-邻(对)氯苯氧乙基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-N'-芳酰基硫脲的合成与生物活性[J]. 有机化学, 2005, 25(10): 1306-1310. (Wang Z Y, Gong Y X, Chen C B, et al. Synthesis and biological activity of N-[5-(1-o(p)-chlorophenoxyethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]-N'-aroyl thioureas[J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2005, 25(10): 1306-1310.)
- [5] 魏学, 郑玉国, 薛伟, 等. 新型 1,2,4-三唑并[3,4-b]-1,3,4-噻二唑类衍生物合成及其抗病毒活性[J]. 合成化学, 2010, 18(5): 595-598. (Wei X, Zheng Y G, Xue W, et al. Synthesis of novel triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazole derivatives and their antiviral activity[J]. Chinese Journal of Synthetic Chemistry, 2010, 18(5): 595-598.)
- [6] 王婷婷, 邴贵芳, 张欣, 等. 3-(5-乙氧基-1,3,4-噻二唑-2-亚甲基)-2-氰基-3-取代-丙烯酸酯类化合物的合成、晶体结构及生物活性[J]. 高等学校化学学报, 2010(4): 708-713. (Wang T T, Bing G F, Zhang X, et al. Synthesis, crystal structure and bioactivities of 2-cyanoacrylates containing 5-ethoxy-1,3,4-thiadiazol-2-methylaminemoiety[J]. Chemical Journal of In Chinese Universities, 2010(4): 708-713.)
- [7] 刘萍, 李明军. 植物生理实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2008. (Liu P, Li M J. Plant physiology experimental technology [M]. Beijing: Science Press, 2008.)
- [8] 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, 2003. (Li H S. Plant physiology and biochemistry experiment: principle and technology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2003.)
- [9] 王丽燕. 硅对 NaCl 胁迫下野大豆种子萌发的影响[J]. 大豆科学, 2010, 29(5): 906-908. (Wang L Y. Effects of exogenous silicon on germination of *Glycine soja* under salt stress[J]. Soybean Science, 2010, 29(5): 906-908.)
- [10] 杨小环, 杨文秀, 马金虎, 等. 种子引发对大豆发芽和幼苗生理特性的影响[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2009, 29(6): 537-541. (Yang X H, Yang W X, Ma J H, et al. Effect of seed priming on germination and physiological characteristics of seedling in soybean[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2009, 29(6): 537-541.)
- [11] 谢志玉, 张文辉, 刘新成. 干旱胁迫对文冠果幼苗生长和生理生化特征的影响[J]. 西北植物学报, 2010, 30(5): 948-954. (Xie Z Y, Zhang W H, Liu X C. Growth and physiological characteristics of *Xanthoceras sorbifolia* seedlings under soil drought stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(5): 948-954.)
- [12] 何俊瑜, 任艳芳, 王阳阳, 等. 不同品种小麦种子萌发和幼苗生长对镉胁迫的响应[J]. 麦类作物报, 2009, 29(6): 1048-1054. (He J Y, Ren Y F, Wang Y Y, et al. Response to cadmium stress at seed germination and seedling growth of different wheat varieties [J]. Journal of Triticeae Crops, 2009, 29(6): 1048-1054.)