

# 安全剂 NA 对玉米氟磺胺草醚 药害解毒效应的研究

陶 波, 王小琴, 胡阿曼

(东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 采用盆栽及生物化学分析方法研究安全剂 NA(1,8-萘二甲酸酐)对玉米的保护作用及对氟磺胺草醚的解毒效应。结果表明,安全剂 NA 对氟磺胺草醚残留的玉米具有明显的保护作用,不同玉米品种的保护作用有一定差异,其中,NA 对自交系 Lx347 保护作用最好,自交系 P138 次之,杂交种东农 0701B 最差。在安全剂 NA 稀释倍数为 200 时,玉米谷胱甘肽(GSH)含量和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)比活力增长量最多,且对叶部的增加作用最为明显。

**关键词:** 玉米; NA; 氟磺胺草醚; 谷胱甘肽(GSH); 谷胱甘肽-S-转移酶(GST)

**中图分类号:** S513

**文献标识码:** A

## Effect of Safener NA Detoxication on Maize Fomesafen Injury

TAO Bo, WANG Xiao-qin, HU A-man

(College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Potted plants and biochemical analysis method were conducted to study the safener NA protection on maize and detoxication on fomesafen injury. The results showed that the safener NA had a significant protection on maize caused by fomesafen residual, different varieties of maize had different protections. Among them, NA had the best protection on maize inbred lines Lx347, second was the maize inbred lines P138, and the maize hybrid 0701B was the worst. When safener NA has diluted by 200 times, the glutathione(GSH) content and glutathione-S-transferases(GST) activity reached the highest increment, and the leaves were the most obvious role in promoting.

**Key words:** Maize; NA; Fomesafen; Glutathione(GSH); Glutathione-S-transferases(GST)

氟磺胺草醚(Fomesafen),化学名称 5-(2-氯-4-三氟甲基苯氧基)-N-甲磺酰-2-硝基苯甲酰胺,是 1977 年英国 ICI Plant Protection Division 公司开发的一种二苯醚类除草剂<sup>[1]</sup>。该药有极好的活性,是防除大豆田阔叶杂草的优良除草剂品种之一<sup>[2]</sup>。对莧菜、刺菜儿、鸭趾草等恶性杂草也有良好防效,由于其除草效果好、杀草谱宽,已成为大豆田苗后主要除草剂,使用量逐年增加<sup>[3]</sup>。氟磺胺草醚在土壤中残效期长,半衰期达 100 d 左右,对后茬敏感作物特别是玉米有明显药害作用,但不同玉米品种对氟磺

胺草醚的敏感程度不同<sup>[4,5]</sup>。目前,国内外研究不同玉米氟磺胺草醚残留药害问题较少,因此,如何解决玉米田氟磺胺草醚除草剂残留问题已成为当前世界上重要研究课题。

安全剂又称解毒剂或保护剂,可以在不影响除草剂对靶标杂草活性的前提下有选择性地保护作物免受药害,提高对作物的安全性。NA(1,8-萘二甲酸酐)是由 Gulf Oil 公司 1972 年正式推出的世界上第一个商品化安全剂<sup>[6]</sup>,它是通过竞争可以逆转硫代氨基甲酸酯类除草剂对脂肪酸生物合成的抑制作用,从而达到解毒目的<sup>[7]</sup>,它能够有效地保护几种作物免受 20 多种除草剂的伤害。国内外研究证明,通过安全剂 NA 浸种或拌种能明显增加玉米对硫代氨基甲酸酯类除草剂、氯乙酰胺类除草剂、咪草烟、氯嘧磺隆和胺苯磺隆残毒的耐性,并且可诱导谷胱甘肽(GSH)含量及谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活性的提高。但未见利用 NA 提高玉米 GSH 含量及 GST 活性,从而对二苯醚类除草剂增加耐性的研究报道。

收稿日期: 2015-03-26

基金项目: 国家公益性项目“杂草抗药性检测及治理技术研究与示范”(201303031)

作者简介: 陶 波(1963-),男,博士,教授,博士生导师,研究方向为新型农药开发。Tel:13030061463

E-mail:botaol@163.com

本试验通过温室盆栽,研究NA对氟磺胺草醚的解毒效果,并通过玉米幼苗生长及GSH含量的测定,研究NA对氟磺胺草醚的解毒机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试玉米品种为Lx347(自交系)、P138(自交系)、东青1号(杂交种)、东农0701B(杂交种),以上4种玉米品种均由东北农业大学玉米教研室提供。

### 1.2 供试药剂

#### 1.2.1 除草剂

萘二甲酰(NA),日本组合化学公司;98%氟磺胺草醚原药,江苏常青农药有限公司提供;25%氟磺胺草醚水剂(虎威),大连瑞泽农药股份有限公司产品。

#### 1.2.2 供试试剂

5%TCA;10 mmol/L DTNB(溶于0.5 mol/L pH值为8磷酸缓冲液配制);酶提取液(0.1 mol/L pH值为6.5磷酸钾缓冲液内含5%聚乙烯吡咯烷酮及1 mmol/L 偏重亚硫酸钠);3.0 mmol/L 谷胱甘肽(溶于0.1 mol/L pH值为6.5磷酸钾缓冲液);20 mmol/L溶于96%乙醇的CDNB。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 玉米的培养及诱导

将精选的玉米种子用60℃左右的温水浸泡30 min(水加热到60℃后拿出水浴锅,将种子置于水

中),再用0.6%的多菌灵浸泡30 min,用蒸馏水冲洗干净,分别用安全剂NA(将商品药NA分别稀释50、100、200、400倍后使用)浸种12 h左右,再用蒸馏水清洗干净,放在温度27℃、湿度75%的培养箱内,催芽24 h左右<sup>[8]</sup>。

取过20目筛的黑土,配制成浓度为0.4 mg/L 氟磺胺草醚毒土,每个处理均以1 kg标准土样平均装入3个盆中,选择同一处理的玉米种子7粒,脐部朝下,均匀地播种于毒土处理的盆中,每个处理重复3次,置人工气候培养箱内培养(温度27℃、湿度75%、光照8 h,黑暗16 h循环培养)。玉米生长7 d后,测定玉米的株高、根长、GSH含量和GST活力。

#### 1.3.2 GSH含量测定

标准曲线的绘制,参照Ellman原理,用磷酸缓冲液配制500 μg/mL GSH母液,分别取0、5、25、50、100、150、200、250、500、1 000 μL,各加入5% TCA,分别向配好的系列标准液加入适量DTNB显色,20℃水浴5 min使其充分显色,在412 nm下测定OD值。

取玉米植株的根、茎、叶分别0.2 g,加5%的TCA,在0℃~4℃下研磨,放入离心管中离心(15 000 r/min)20 min,取适量离心后的上清液放入试管,加入pH值为8磷酸缓冲液,再加入DTNB显色,20℃水浴5 min使其充分显色,然后在412 nm下测定OD值。

$$\text{GSH含量增长率} = \frac{\text{处理GSH含量} - \text{对照GSH含量}}{\text{对照GSH含量}} \times 100\%$$

#### 1.3.3 GST比活力测定

应用徐刚法<sup>[9]</sup>并稍作改进,分别取玉米植株的根、茎、叶0.2 g,加入酶GST提取液,在0℃~4℃下研磨,然后放入离心管中,15 000 r/min离心20 min,上清液为待测酶液。取出待测酶液,向待测酶液中加入pH值为6.5的磷酸钾缓冲液,最后加入溶于96%乙醇的CDNB,340 nm反应5 min,每隔1 min测定

OD值。

$$\text{GST比活力}[\text{umol}/(\text{min} \cdot \text{mg})] = \frac{\Delta A_{340 \text{ nm}} \cdot V}{\epsilon \cdot L}$$

式中ΔA340 nm为每分钟光吸收的变化值,V为酶促反应体积,L为比色杯光程(1 cm),ε为产物的消光系数[0.009 6 L/(umol·cm)]。

$$\text{GST比活力增长率} = \frac{\text{处理GST比活力} - \text{对照GST比活力}}{\text{对照GST比活力}} \times 100\%$$

### 1.4 数据分析

采用Excel和DPS统计软件对试验数据进行整理和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 NA对氟磺胺草醚土壤中玉米的保护作用

由图1可知,在NA浸种处理下,不同品种玉米

株高都有明显的恢复作用,在NA稀释200倍时各玉米品种株高恢复率达到最大,各品种中恢复率最高为自交系Lx347,高达49.7%,其次是自交系P138,然后是杂交种东青1号,最后是杂交种东农0701B。各玉米根长的恢复规律与株高的相同(图2),在NA稀释50倍时,NA对氟磺胺草醚土壤中玉米的根长没有进行解毒作用,反而抑制了主根的生长。

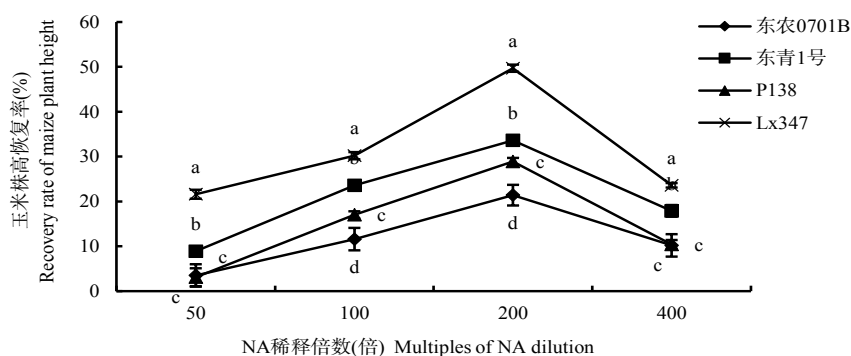


图1 安全剂NA对不同玉米品种株高的保护作用

Fig.1 Protection of safener NA on plant height of different maize varieties

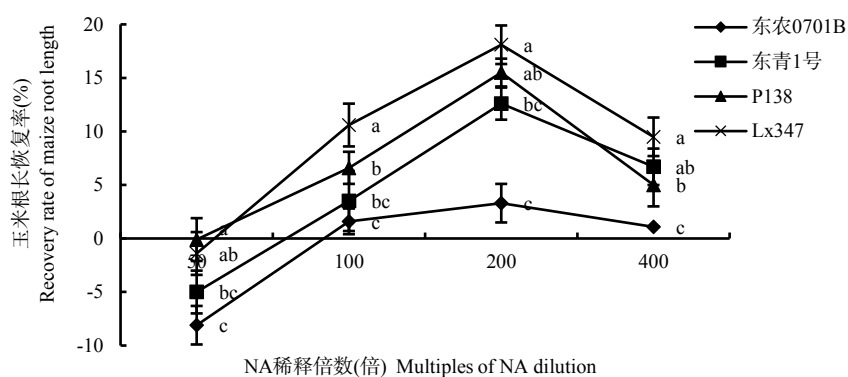


图2 安全剂NA对不同玉米品种根长的保护作用

Fig.2 Protection of safener NA on root length of different maize varieties

## 2.2 安全剂NA对氟磺胺草醚土壤中玉米GSH和GST的影响

### 2.2.1 NA对玉米GSH含量的影响

由图3可知,NA能明显提高氟磺胺草醚土壤中不同玉米品种叶部的GSH含量,且随着NA稀释倍数的增加,GSH含量增长率也随之增加。在NA稀释200倍时,玉米叶部GSH含量增长到最大值,之后随着NA稀释倍数的增加,GSH含量增长率降低;在

NA稀释200倍和400倍时,自交系Lx347的GSH含量增长率明显高于其他品种,其他3个品种GSH含量增长率相差不大;在NA稀释200倍时,自交系Lx347的GSH增长率为44.36%,自交系P138为18.2%,杂交种东青1号为16.01%,杂交种东农0701B为15.62%。玉米叶部GSH含量的增长与玉米品种和NA浓度有关,且NA稀释200倍时,对氟磺胺草醚解毒效果最佳。

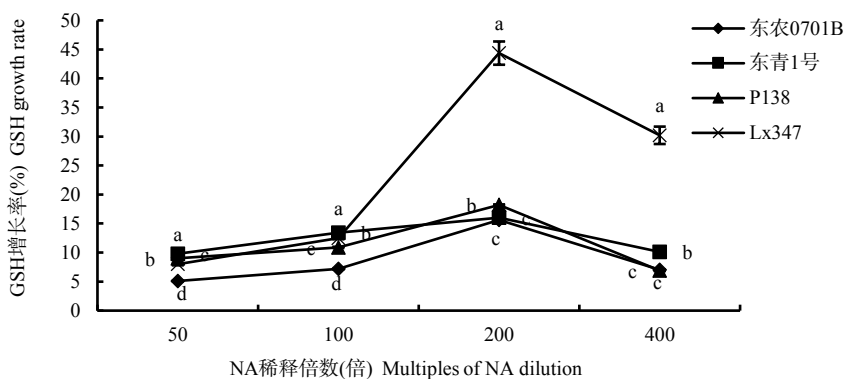


图3 NA稀释倍数对玉米叶部GSH含量的影响

Fig.3 Dilution multiple of safener NA on GSH content of maize leaves

在NA稀释200倍浸种处理条件下,NA对氟磺胺草醚土壤中玉米各部位GSH含量增长率的影响不同,按照GSH含量增长率从大到小依次为叶部>根部>茎部,其中4个玉米品种根部和茎部GSH含量增长率品种间相差不大,但自交系Lx347叶部增长率与其他品种相差很大,是其他3个玉米品种叶部GSH含量增长率的2倍左右(图4)。

在NA稀释200倍浸种处理时,氟磺胺草醚土壤中玉米GSH含量最高,其中叶部和根部明显高于茎部,这主要是因为氟磺胺草醚主要通过根叶吸收造成的。试验结果表明,NA诱导玉米产生大量GSH与除草剂结合从而进行解毒,解毒作用的主要作用位点与除草剂被玉米吸收的部位有关。

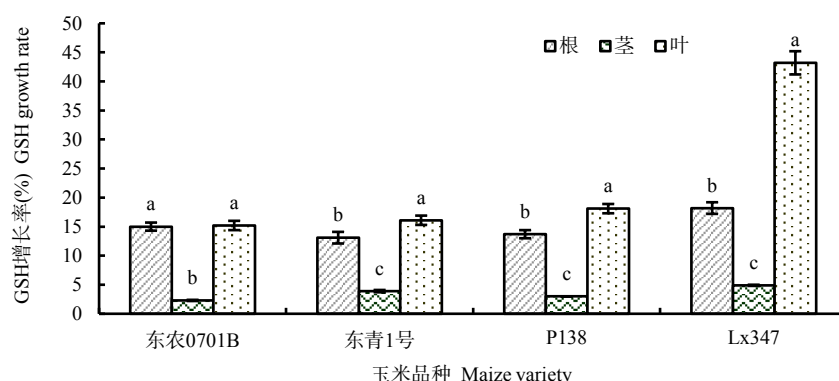


图4 NA对玉米各部位GSH含量的影响

Fig.4 Effect of safener NA on GSH content of maize varieties parts

### 2.2.2 NA对玉米GST比活力的影响

由图5可知,不同NA稀释倍数对氟磺胺草醚土壤中不同玉米品种叶部GST比活力有明显影响。玉米叶部GST比活力增长率随着NA稀释倍数的增加而增加,在NA稀释200倍时,受NA诱导后玉米产生的GST比活力达到最高;在NA稀释400倍时开始下降。自交系Lx347的GST比活力增长率明显

高于其他品种,除NA稀释400倍外,按GST比活力增长率从大到小排列依次为自交系Lx347>自交系P138>杂交种东青1号>杂交种东农0701B。玉米GST比活力的增长趋势与GSH含量增长趋势相同,说明安全剂能够诱导在氟磺胺草醚土壤中玉米体内GST活性,催化GSH与除草剂结合反应从而解毒。

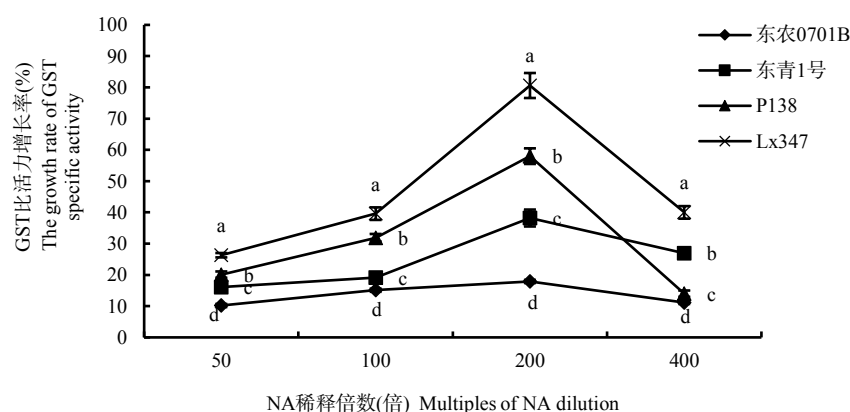


图5 NA稀释倍数对玉米叶部GST活性的影响

Fig.5 Dilution multiple of safener NA on GST activity content of maize leaves

由图6可知,NA对氟磺胺草醚土壤中玉米根部和叶部GST比活力的影响远远高于茎部,并且叶部高于根部。自交系Lx347叶部的增长率是茎部的7.85倍,是根部的2.38倍,说明NA对氟磺胺草醚土

壤中玉米主要作用位点为叶部。4个玉米品种中自交系Lx347在氟磺胺草醚土壤中受NA诱导下,玉米根长恢复率、株高恢复率、GSH含量增长率和GST比活力增长率最大。

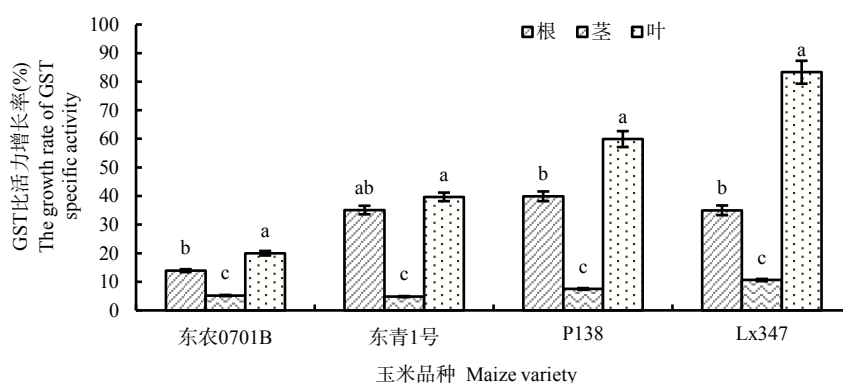


图6 NA对玉米各部位GST比活力的影响

Fig.6 Effect of safener NA on GST activity of maize varieties parts

### 3 结论与讨论

本研究结果表明,对氟磺胺草醚耐性高的玉米品种体内GSH含量和GST比活力相对较高。结果与陶波等报道乙草胺对玉米谷胱甘肽转移酶的诱导作用变化规律一致,进而证明了玉米对除草剂耐性程度与体内GSH和GST有关。

Andrews和Skipsey等人<sup>[10]</sup>研究表明,氟磺胺草醚施用在大豆田,大豆能够利用GST催化,使GSH巯基负离子进攻氟磺胺草醚亲电底物,并伴随着氟磺胺草醚Cl原子被取代,从而进行解毒。安全剂NA能够提高玉米体内GST活性和GSH含量,但安全剂是否能够通过提高玉米体内GST和GSH来提高玉米对氟磺胺草醚耐性仍有待研究。

试验结果表明,NA能明显提高氟磺胺草醚土壤中不同玉米品种株高、根长、GSH含量和GST比活力,在NA稀释200倍时,氟磺胺草醚土壤中不同玉米品种株高恢复率、根长恢复率、GSH含量增长率和GST比活力增长率从大到小依次为自交系Lx347>自交系P138>杂交种东青1号>杂交种东农0701B。说明NA主要是通过提高玉米体内GSH含量和GST比活力来提高玉米对除草剂的耐性,从而对玉米氟磺胺草醚药害起到解毒作用。

#### 参考文献:

- [1] 高世杰,韩玉军,陶 波. 氟磺胺草醚的生物测定方法研究[J]. 东北农业大学学报,2011,42(7):45-49.  
Gao S J, Han Y J, Tao B. Study on bioassay method of fomesafen[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42(7): 45-49. (in Chinese)
- [2] 王恒亮,葛玉红. 不同缓解处理对氟磺胺草醚大豆药害的缓解效果研究[J]. 大豆科学,2013,32(5):676-679.  
Wang H L, Ge Y H. Effects of different mitigation treatments on the phytotoxicity of fomesafen in soybean[J]. Soybean Science, 2013, 32

(5): 676-679. (in Chinese)

- [3] 白 杰,韩玉军,陶 波. 氟磺胺草醚毒害玉米的生理指标分析[J]. 玉米科学,2014,22(3):81-85.  
Bai J, Han Y J, Tao B. Physiological index of corn caused by fomesafen-poisoned[J]. Maize Science, 2014, 22(3): 81-85. (in Chinese)
- [4] 欧阳华学,黎源倩,肖全伟. 同时测定大豆中二苯醚类除草剂的多残留[J]. 现代预防医学,2011,38(5):927-930,933.  
Ou'yang H X, Li Y Q, Xiao Q W. Simultaneous determination of multiple residues of biphenyl ether herbicide in soybean by high performance liquid chromatography with solid phase extraction[J]. Modern Preventive Medicine, 2011, 38(5): 927-930, 933. (in Chinese)
- [5] Evans J D H L, Cavell B D, Highnett R R. Fomesafen-metabolism as a basis for its selectivity in soya[C]. Proc. Brighton Crop. Prot. Conf., 1987: 345-352.
- [6] 黄春艳. 除草剂安全剂研究概况[J]. 黑龙江农业科学,2005(5):26-29.  
Huang C Y. A survey of herbicide safeners[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2005(5): 26-29. (in Chinese)
- [7] 陶 波,何钟佩. 作保灵(TNA)对大豆保护效应及机制的研究[J]. 大豆科学,2000,19(2):189-192.  
Tao B, He Z P. The study of TNA on protective effect and mechanism of soybean[J]. Soybean Science, 2000, 19(2): 189-192. (in Chinese)
- [8] 陶 波,胡阿曼. 乙草胺对玉米中谷胱甘肽转移酶的诱导作用[J]. 东北农业大学学报,2013,44(4):43-47.  
Tao B, Hu A M. Acetochlor induction on maize glutathione S-transferase[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2013, 44(4): 43-47. (in Chinese)
- [9] Xu G, Tao B. Induction of glutathione and glutathione-s-transferase in several crops with the treatment of acetochlor[J]. Journal of Northeast Agricultural University: English Edition, 2003, 10(2): 161-165.
- [10] Andrews C J, Cummins I, Mark Skipsey, et al. Purification and characterization of a family of glutathione transferases with roles in herbicide detoxification in soybean; selective enhancement by herbicides and herbicide safeners[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2005, 82: 205-219.

(责任编辑:高 阳)