

^{14}C -三唑酮在小麦幼苗上的吸收 分布和影响因素*

李健强 刘西莉

(中国农业大学植物病理系, 北京 100094)

高黎力

(黑龙江省植检植保站, 哈尔滨)

摘要 应用同位素示踪技术研究了 ^{14}C -三唑酮在小麦2~3叶期幼苗上的吸收分布和影响因素。结果表明,根部给药后2~216h,小麦幼苗根部放射性相对强度由54.0%下降为21.7%;在幼苗残存种子上的放射性相对强度由37.5%上升为56.6%; ^{14}C -三唑酮向顶传导速度很快,在叶片中的积累与根部给药时间呈正相关,由8.5%上升为21.7%。放射性自显影证明,根部给药后144h, ^{14}C -三唑酮可以内吸传导到整个小麦植株。小麦幼苗根部吸收三唑酮属于被动扩散的物理过程,没有膜蛋白和ATP酶的参与;蔗糖、亮氨酸、赖氨酸和谷氨酸对吸收无明显影响。环境pH3~7时能正常吸收,pH8时对吸收产生一定抑制作用。故可推断土壤环境保持中性偏酸有利于小麦种苗对种衣剂中三唑酮成分的吸收。

关键词 ^{14}C -三唑酮, 小麦幼苗, 内吸传导, 影响因素

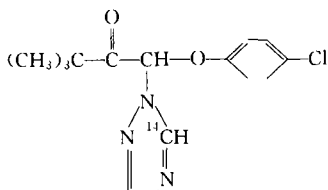
三唑酮是由德国Bayer公司1970年合成的一种低毒、广谱、高效和持效期长的内吸性杀菌剂,其不同剂型已推广应用于防治小麦等近30种作物的50多种种传、土传和气传病害。国外对三唑酮在植物、土壤和真菌体内的吸收分布与代谢开展了广泛的研究,证明了其内吸性能及三唑醇为主要代谢产物^[1]。在我国先后有人采用仪器分析方法或生测方法研究其在小麦上的安全用量、残留和在小麦及土壤中的消解动态^[2~3]。1989年曹国印等标记合成三唑基- ^{14}C -三唑酮获得成功,江树人等利用同位素示踪手段研究了 ^{14}C -三唑酮在黄瓜植株内的代谢^[4]。三唑酮是现阶段我国大面积推广使用的小麦、棉花种衣剂中的重要有效成分之一,目前尚未见运用同位素示踪手段研究其在小麦种子、幼苗上的内吸传导、分布行为及影响药剂吸收和运转因素方面的文献报道。探明这些问题,对丰富三唑酮的药理学、进一步揭示含三唑酮种衣剂的作用机理及指导小麦种子处理都具有重要意义。作者研究了 ^{14}C -三唑酮从根部给药后在小麦幼苗上的吸收分布和影响因素,结果如下。

* 中国科学院封丘农业生态开放实验站基金(961601)资助。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 药剂:① ^{14}C -三唑酮在中国农科院原子能研究所标记合成,放射性比活度为 $0.7298\mu\text{Ci}/\text{mg}$,用丙酮溶解后制备成 $61.4638\mu\text{Ci}/\text{ml}$ 溶液,放化纯度大于 95%。三唑酮的结构式及 ^{14}C 标记位置如下:



②CCCP(Carbonylcyanure-m-chlorophenylhydrazine)、PCMBs(Parachloromercuribenzenesulfonic acid)均为 Sigma 公司产品,蔗糖及亮氨酸、赖氨酸和谷氨酸等市售;③甲醇、乙醇、丙酮均为分析纯,甲苯闪烁液与二氧六环闪烁液按江树人方法配制^[5]。

1.1.2 小麦种子:京双 16(中国农科院植保所提供)。

1.2 根部给药后三唑酮在小麦植株上的内吸分布

京双 16 小麦种子播种于中国农业大学科学园,2~3 叶期整株取样,在室内用自来水洗净根部泥土后置于直径 1.5cm 指形管内(每 5 株 1 组,下同),使其根部浸泡于含有 $0.74\mu\text{Ci } ^{14}\text{C}$ -三唑酮的 5ml 营养液中^[6],于 $20\pm 2^\circ\text{C}$ 生长箱中(RH65%~75%,光照强度约 10000lx,光照时间 16h/d^[5])培养 2、4、8、12、24、48、72、120、144、216h 后各取出 1 组,分别用自来水、乙醇和蒸馏水洗净根部,滤纸吸干后平铺于吸水纸上夹于厚书中,50℃ 下烘干后在暗室内使各处理植株紧贴在 X 光胶片上用夹板压紧,在黑暗条件下(室温)曝光 15~20d,然后进行放射性自显影。将不同培养时间段的另一组麦苗分为根、残存种子和叶片 3 部分,称重后加入适量甲醇在 DJJO1 型台式均质器和超声波震荡器(DYNATECH SONI DISMEMBRATOR)中萃取,然后在电动吸引器中抽吸,萃取 5 次,合并萃取液,定容后用 Tricarb 4000 液体闪烁计数器测各处理部位放射性强度。

1.3 小麦幼苗吸收三唑酮的影响因素

1.3.1 温度对吸收的影响:取京双 16 田间 2~3 叶期幼苗洗净根部后按 5 株分为 1 组,共 10 组,均将其根部浸泡于含 $0.74\mu\text{Ci } ^{14}\text{C}$ -三唑酮的 5ml 营养液中,各 5 组分别在 4℃ 和 24℃ 下培养,经过 1、2、4、6 和 8h 后取样测定幼苗的吸收量,计算出幼苗吸收 ^{14}C -三唑酮的 Q_{10} 值,通过 Q_{10} 值的大小来判断温度对吸收的影响。

1.3.2 CCCP 和 PCMBs 对吸收的影响:将京双 16 田间 2~3 叶期幼苗在 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5}mol/L 浓度 CCCP 和 PCMBs 溶液中处理 1h,然后转入含 $0.74\mu\text{Ci } ^{14}\text{C}$ -三唑酮的 5ml 营养液中,室温下培养 3h 后测定吸收量。

1.3.3 蔗糖和氨基酸对吸收的影响:将京双 16 田间 2~3 叶期幼苗分别放在含有 1mmol/L 的蔗糖、亮氨酸(中性)、赖氨酸(碱性)和谷氨酸(酸性)的 ^{14}C -三唑酮溶液(5ml, $0.74\mu\text{Ci}$)中,室温下培养 3h 后取样测定吸收量。

1.3.4 环境 pH 值对吸收的影响:用柠檬酸和 Na₂HPO₄ 配制成 pH3、4、5、6、7、8 的缓冲溶液,分别用它们与¹⁴C-三唑酮配制成 0.148 μ ci/ml 的溶液,取京双 16 2~3 叶期幼苗置于不同 pH 值的¹⁴C-三唑酮药液(5ml,0.74 μ ci)中培养 3h,测定吸收量。

上述各项中吸收量用北京核仪器厂生产的 BH1216 低本底 α 、 β 测量装置测定。

2 结果与分析

2.1 根部施药后三唑酮在小麦植株上的吸收分布

示踪试验结果(表 1)表明,¹⁴C-三唑酮通过根部给药向顶传导速度很快,给药后 2h,小麦植株根系从营养液中吸收的放射性总量达 42051dpm,其中 54.0%分布在根部,37.5%分布在幼苗残存的种子上,叶片上亦达到 8.5%。在连续给药的 216h 内,植株吸收的¹⁴C-三唑酮逐步提高,到 216h 时达 205657dpm,此时,幼苗根部放射性物质含量占 21.7%,残存种子上占 56.6%,叶片中上升到 21.7%。可见随着根部给药时间的增长,根部放射性物质相对含量逐步降低,叶部和种子上的放射性物质相对含量逐步升高,其积累与给药时间呈正相关。

表 1 ¹⁴C-三唑酮处理小麦根部后在麦苗内的吸收与分布

作用时间 (h)	总放射性强度 (dpm)	放射性物质的分布(dpm)		
		根	种子	叶片
2	42051(100.0%)	22723(54.0%)	15786(37.5%)	3542(8.5%)
4	63645(100.0%)	28007(44.0%)	25753(40.5%)	9885(15.5%)
8	80247(100.0%)	29521(36.5%)	32313(40.3%)	18683(23.2%)
12	81967(100.0%)	29414(35.9%)	32840(40.0%)	19713(24.1%)
24	93722(100.0%)	30684(32.7%)	45745(48.8%)	17293(18.5%)
48	158347(100.0%)	48340(30.5%)	74682(47.2%)	35325(22.3%)
72	150501(100.0%)	45239(30.0%)	79149(52.5%)	26113(17.5%)
120	162103(100.0%)	41463(25.6%)	89294(55.1%)	31346(19.3%)
216	205657(100.0%)	44681(21.7%)	116437(56.6%)	44539(21.7%)

从放射性自显影照片(图 1)可以看出,小麦幼苗根部给药处理后三唑酮可以快速内吸,并随植株的蒸腾作用在小麦幼苗内迅速传导。根部直接接触¹⁴C-三唑酮药液,它的放射性物质含量较高,相当于一个小药库,不断向上传导到达叶片部位,到 144h 时整个植株叶片中都有三唑酮分布。这为三唑酮通过种子施药后内吸传导到地上部未施药部位,发挥其防治小麦白粉、锈病等病害的效能提供了依据。

2.2 小麦幼苗吸收三唑酮的影响因素

2.2.1 温度对吸收的影响:相关研究表明, Q_{10} 值大于或小于 2.0 可以作为判断植物对药剂的吸收是与生物代谢相联系,还是属于被动的物理过程的标准^[7]。在 4、24℃下小麦植株的放射性相对强度均随培养时间延长而增大,但 24℃下各个培养时间段植株吸收的三唑酮明显大于 4℃下的吸收值(表 2)。计算 Q_{10} 值表明, Q_{10} 值在最初培养的 4h 内随时间延长而递增,然后基本上稳定在 1.6 水平上,反映出培养体系的平衡过程。据此推断小麦幼苗对三唑酮的吸收属于被动的物理过程。

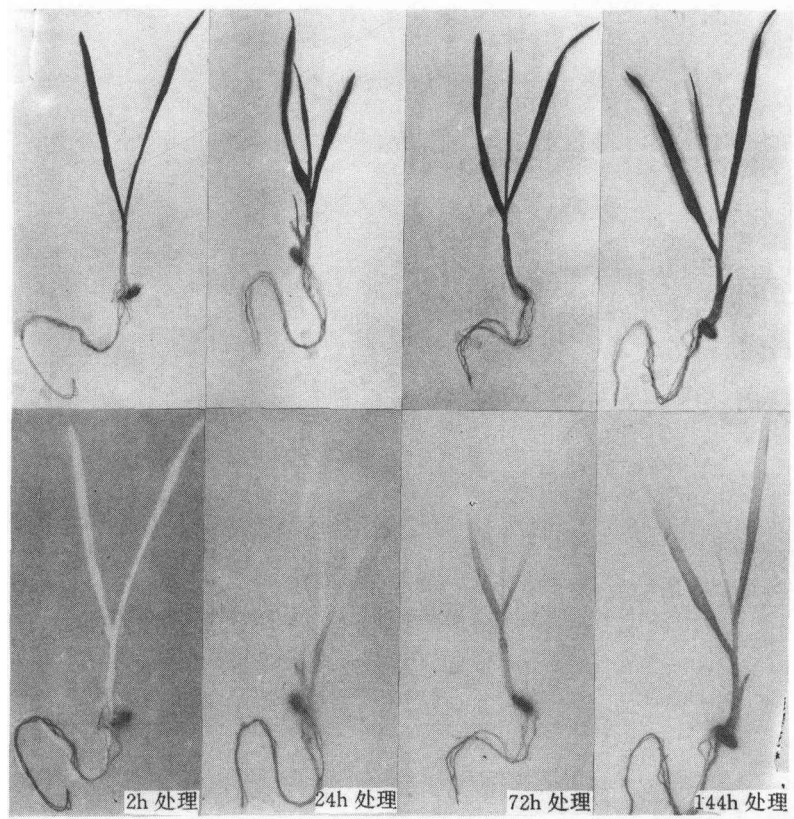


图 1 根部给药处理后¹⁴C-三唑酮在小麦幼苗内的放射性自显影

注：上、下图分别为被处理植株和它们的放射性自显影照片。

表 2 温度、CCCP 和 PCMBS 对小麦吸收¹⁴C-三唑酮的影响

培养时间 (h)	放射性强度(dpm/株)		Q ₁₀ (4~24℃)	药剂浓度 (mol/L)	放射性强度(dpm/mg·TG)	
	4℃	24℃			CCCP	PCMBS
1	3831	5996	1.57	0	268	268
2	4783	7700	1.61	10 ⁻⁵	259	248
4	5612	9242	1.65	10 ⁻⁴	239	277
6	8223	13790	1.68	10 ⁻³	250	289
8	8556	14498	1.69			

2.2.2 CCCP 和 PCMBS 对吸收的影响:CCCP 是一种解偶联剂,它是否能影响幼苗对某种化合物的吸收,是判断吸收过程是否需要能量的标志,PCMBS 是一种非渗透性巯基抑制剂,它对植物吸收某化合物的影响与否,可以用来判断吸收过程是否有膜蛋白的参与。从表 2 可以看出,解偶联剂 CCCP 在 10⁻³~10⁻⁵mol/L 浓度范围内并不明显影响小麦对¹⁴C-三唑酮的吸收,说明吸收过程不需要能量。由于非渗透性巯基抑制剂 PCMBS 可以影响质膜外表蛋白载体的功能和质膜 ATP 酶的活性^[8],本试验中 PCMBS 在不同浓度下对小麦幼苗吸收¹⁴C-三唑酮的影响亦不明显,表明小麦幼苗对三唑酮的吸收过程没有蛋白载体的参与,和

质膜上 ATP 酶的活性也无明显相关,这一结果与 2.2.1 中得出的“被动的物理过程”相一致。

2.2.3 蔗糖和氨基酸对吸收的影响:因为蔗糖和氨基酸进入植物体活细胞内主要借助于质膜上的蛋白载体,如果 1.3.2 中 PCMBs 试验证实吸收过程有膜蛋白参与,则当小麦植株吸收三唑酮时,三唑酮将因为与蔗糖、氨基酸共用载体而发生竞争效应,在一定浓度的蔗糖或氨基酸存在时会减少小麦幼苗吸收三唑酮。检测结果(表 3)表明,当以 dpm/株为标准时,由于检测样品中幼苗重量的差异造成蔗糖和亮氨酸似乎对吸收分别有促进或抑制作用。但当以单位重量(干重)样品所含的放射性量(dpm/mg·TG)为标准时,可以看出高浓度的蔗糖和 3 种酸、碱性状不同的氨基酸与三唑酮的吸收没有竞争效应,对小麦吸收三唑酮无明显影响,进一步说明杀菌剂三唑酮不需借助质膜上的蛋白载体进入植物体活细胞中,而是通过被动的物理过程扩散进入小麦幼苗内,并通过植株的蒸腾作用等动力而传导。

2.2.4 环境 pH 值对吸收的影响:因为介质的酸碱度(pH)值可以影响杀菌剂的解离,从而改变其跨膜扩散进入植株共质体的速度。检测结果(表 3)表明,由于各处理样品植株间重量上的差异,通过每个植株上的放射性量难于比较不同 pH 对小麦幼苗吸收三唑酮的影响,转换成单位干重样品中含有的放射性强度后,表明药液 pH 在 3~7 范围内对三唑酮的解离和吸收无明显影响,而当 pH 达到 8 时,会影响三唑酮的解离程度,降低小麦幼苗对¹⁴C-三唑酮的吸收。

表 3 蔗糖和几种氨基酸及环境 pH 值对麦苗吸收¹⁴C-三唑酮的影响

化合物 名称	5 株样品 干重(mg)	放射性强度		环境 pH	5 株样品 干重(mg)	放射性强度	
		dpm/株	dpm/mg·TG			dpm/株	dpm/mg·TG
蔗糖	167.5	20063	599	3	165.1	18735	567
亮氨酸	127.3	15378	604	4	172.6	19504	565
赖氨酸	148.6	17846	600	5	178.5	17808	499
谷氨酸	143.8	17882	622	6	173.5	17391	501
对 照	141.6	17173	606	7	165.0	18060	547
				8	211.2	18424	436

3 结论与讨论

结果表明,¹⁴C-三唑酮从小麦幼苗根部向顶传导速度很快,在幼苗残存种子内和叶片中的积累与给药时间呈正相关,给药 144h 后药剂可内吸传导分布于整个植株;小麦植株从根部吸收三唑酮是一个被动的物理过程,没有蛋白载体的参与,与质膜上的 ATP 酶也无明显相关,蔗糖及酸碱特性不同的几种氨基酸的存在对植株吸收三唑酮无明显影响;在中性偏酸环境下小麦植株能正常吸收三唑酮,当 pH 达到 8 以上,对吸收具有一定的抑制作用。已有研究表明^[1],三唑酮在植物、土壤和真菌体内有不同的代谢路径,代谢产物包括 KWG-1323, KWG-1342, 三唑醇和三唑醇酸等多种化合物,其中三唑醇又包括三唑醇 A 和三唑醇 B 两种光学异构体。本研究因¹⁴C 标记在杂环上,所以测定的放射性强度中包含有几种不同的¹⁴C 标记的杂环代谢分解产物。有关种衣剂中三唑酮在小麦种苗内的代谢行为尚在研究中。

同位素示踪技术已在杀菌剂药理学和种子施药技术研究中得到逐步应用^[1,5],它具有易探测、直观、高灵敏度和易跟踪等特点,与生物测定、仪器分析等方法相比不仅能互为补充,而且又具有研究手段上的先进性^[5]。

作者曾报道在种子处理中三唑酮种衣剂剂型比可湿性粉剂剂型具有更好的牢固性、

均匀度和抗溶解淋失性能^[9]。本文结果证实了三唑酮从小麦根部快速内吸和向顶传导分布于整个植株的性能,这些为三唑酮种衣剂(单剂)或含三唑酮的复合型种衣剂用于小麦等作物种子包衣防治种子病害及苗期地上部病害提供了理论依据。此外,本文关于影响小麦吸收三唑酮的因素研究,提示今后应该考虑用于种子包衣处理的三唑酮加工剂型的理化性状及播种包衣处理种子的土壤环境,保持中性偏酸的条件有利于小麦种苗对药剂的正常吸收。

参 考 文 献

- 1 FAO & WHO. Pesticide residues in food-evaluations. FAO Plant Production and Protection Paper 42, 1981, 512—547
- 2 陈端美,钱宝英,王琴孙. 小麦中三唑酮残留量的测定研究. 农药, 1983, 3: 12—14
- 3 王 仪,等. 粉锈宁及其代谢物羟锈宁在小麦和土壤中的消解动态. 农业环境保护, 1987, 6(3): 18—20, 34
- 4 江树人,曹国印. 三唑酮在黄瓜植株体内的代谢. 核农学报, 1991, 5(3): 189—192
- 5 江树人,弗朗茨·米勒. ¹⁴C-多菌灵在棉苗植株内的吸收、传导、分布和代谢研究. 北京农业大学学报, 1987, 13(1): 103—111
- 6 张福锁. 锌在植物细胞原生质膜稳定性方面的作用. 土壤学报, 1993, 30(增刊): 105—112
- 7 Singer S R, McDaniel C N. Transport of the herbicide amitrol by cultured tobacco cells and leaf protoplasts. Plant Physiol., 1982, 69: 1382—1386
- 8 Giaquinta R. Phloem loading of sucrose: Involvement of membrane ATPase and proton transport. Plant Physiol., 1979, 63: 744—748
- 9 李健强. 三唑酮种衣剂在小麦种表的超微分布及抗脱落淋失研究. 植物病理学报, 1998, 28(4): 305—310

UPTAKE, DISTRIBUTION OF ¹⁴C-TRIADIMEFON IN WHEAT SEEDLING AND THE RELATED INTERFERING FACTORS

Li Jianqiang Liu Xili

Gao Lili

(Department of Plant Pathology, China
Agricultural University, Beijing 100094)

(Plant Quarantine and Plant Protection
Station of Heilongjiang, Harbin)

Abstract Uptake and distribution of ¹⁴C-triadimefon in wheat seedling of 2—3 leaf-stage and the related interfering factors were studied by means of radioactive isotope tracer. The results showed that the radioactivity in the treated root dropped from 54.0% to 21.7% after 2—216 h treatment by rootdipping in ¹⁴C-labeled triadimefon solution. The radioactivity in the sprouted seed of treated seedling increased from 37.5% to 56.6%. ¹⁴C-triadimefon was translocated apoplastically with a high speed, and the accumulation of radioactivity in the leaves increased from 8.5% to 21.7% positively correlated with the duration of treatment. Autoradiograph experiment showed that ¹⁴C-triadimefon could be absorbed and distributed in whole seedling 144 h after root treatment. This kind of uptake is considered as a physical process of passive diffusion without the joint-action of membrane-protein and ATPase. Sucrose, leucine, lysine, and glutamic acid showed no effect on uptake of ¹⁴C-triadimefon. An environment of pH 3—7 is favourable for ¹⁴C-triadimefon absorption while inhibition occurred above pH 8.

Key words ¹⁴C-triadimefon, wheat seedling, uptake and distribution, interfering factors