

高效复合助剂对除草剂草甘膦的作用效果

于倩倩, 胡文浩, 史团省*, 夏张尧尧 (郑州大学生命科学学院, 生物多样性与生态研究所, 河南郑州 450001)

摘要 [目的]研究高效复合助剂对除草剂草甘膦的作用效果。[方法]使用苹果离体角质膜为试验材料,采用模拟渗透法,使用紫外分光光度计检测草甘膦的渗透量,研究不同复合型农药助剂对草甘膦渗透的促进作用。选择磷酸三丁酯(TBP)、癸二酸二乙酯(DES)、癸二酸二丁酯(DBS)3种助剂不同配方的复合型助剂作为试验试剂,不加助剂作为空白对照(CK),比较在不同时间、不同温度下不同浓度草甘膦在苹果角质膜上的渗透量。[结果]无论在何种条件下,随着草甘膦浓度的增加,草甘膦的渗透量均增加。在20℃、72h条件下,滴加4.0 μg/mL草甘膦的样品与滴加2.0 μg/mL草甘膦的样品相比,其OD₂₄₀提高了27%。2种复合型助剂均对草甘膦在离体苹果角质膜上的渗透有促进作用,复合型助剂I的促进作用高于复合型助剂II,在草甘膦浓度2.0 μg/mL、湿度100%条件下,随着温度的升高,草甘膦的渗透量有不同程度的增加,在温度25℃、48h时,2种复合型助剂的促进作用达到最好,其OD₂₄₀比对照组提高了26.1%,复合型助剂II则提高了14.8%。在72h时,CK、复合型助剂I、复合型助剂II草甘膦渗透量的OD₂₄₀均达到最大。[结论]复合型助剂I对除草剂草甘膦的促进效果最好。

关键词 农药助剂;草甘膦;角质膜;紫外分光光度计;渗透量

中图分类号 S482.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)23-0106-03

Effect of Different Composite Auxiliaries on the Osmosis of Glyphosate through the Cuticle of Apple

YU Qian-qian, HU Wen-hao, SHI Tuan-sheng et al (School of Life Science, Zhengzhou University, Institute of Biodiversity and Ecology, Zhengzhou, Henan 450001)

Abstract [Objective] To study effect of different composite auxiliaries on the osmosis of glyphosate through the cuticle of apple. [Method] The isolated apple keratinocyte membranes were used as an experimental material to simulate the penetration and absorption of glyphosate, and the penetration of glyphosate on the membrane was measured by using an ultraviolet spectrophotometer to study the effect of different types of composite auxiliaries on the penetration of glyphosate. Tributyl phosphonate (TBP), diethyl sebacate (DES), and dibutyl sebacate (DBS) were used as experimental reagents with different ratios, and no adjuvant as the blank control (CK), and the penetration of different concentrations of glyphosate on the keratinocytes of apples was compared. [Result] No matter what conditions, with the concentration of glyphosate going up, the osmolality of glyphosate increased. At 20℃, 72 h, the OD value of the glyphosate sample at 4.0 g/mL glyphosate had 27% increase in the OD value of the glyphosate sample at 2.0 μg/mL. Composite auxiliaries I and composite auxiliaries II both had obvious promoting effect, composite auxiliaries I promoting effect was higher than composite auxiliaries II, at glyphosate sample at 2.0 μg/mL, 100% humidity, as the temperature going up, the OD value of the glyphosate sample had different degrees of increase. At 25℃, 48 h, composite auxiliaries I and composite auxiliaries II both had the most significant effect on the osmotic effect of glyphosate, compared with the blank control group of the OD value, composite auxiliaries I had 26.1% increased, however composite auxiliaries II had 14.8% increased. At 72 h, the OD value of the glyphosate sample all had the maximum value. [Conclusion] The effect of composite auxiliaries I on glyphosate is best.

Key words Composite auxiliaries; Glyphosate; Cuticle membrane; UV Spectrophotometer; Penetration

草甘膦,化学名N-磷酸甲基-甘氨酸,属于氨基甲撑磷酸类含有羧基的化合物^[1],是一种内传导型广谱灭生性除草剂^[2],是目前全球使用量最大的除草剂^[3],因其具有广谱性,被广泛应用于农业、林业等方面。但草甘膦在水中的溶解性较低,在施用时需要大量的草甘膦才能达到预期的除草效果,不仅造成草甘膦的浪费,还使杂草产生抗药性,成为“超级杂草”,因此,寻找除草剂——草甘膦适合的农药助剂,使草甘膦发挥低量高效的效果成为迫在眉睫的需求。

农药助剂能在不同程度上调节植物气孔开闭、软化蜡质层等的基础上极大地促进植物对表面物质渗透吸收利用的效率^[4],降低一定的农药使用量^[5]，“激健”农药助剂与除草剂(禾阔双除)在大豆田混合使用^[6],除草剂能减少40%的使用量。农药助剂N—基于聚氧乙烯醚改性三硅氧烷化合物(又名奇功)与杀虫剂混合使用,防治效果可达85.44%^[7]。国外开展此方面研究较早,并已有较多的研究成果^[8-9],而国内起步较晚,且很少用离体角质膜作为试验材料^[10]。笔者

采用离体角质膜作为试验材料,对2种复合型助剂对除草剂作用效果的影响进行研究,采用模拟渗透吸收法(SOFU)进行试验^[11-12],在填补国内此方面空白的同时,筛选出能促进草甘膦发挥最佳效果的同时,减轻环境污染。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 离体角质膜。苹果离体角质膜,取自富士苹果(*Malus domestica* Borkh. CV, Red Fuji)。

1.1.2 试验试剂。草甘膦标准样品(99.3%),上海市农药研究所;甲醇(色谱纯),天津四友;亚硝酸钠(分析纯),国药集团化学试剂有限公司;硫酸(分析纯),洛阳昊华化学试剂有限公司;溴化钾(分析纯),国药集团化学试剂有限公司;丙三醇(分析纯),天津市风船化学试剂科技有限公司;果胶酶(1 000 μmol/L),河南省三门峡市梅奥生物工程有限公司;纤维素酶(1 400 μmol/L),河南省三门峡市梅奥生物工程有限公司;柠檬酸;氯化汞;盐酸(1 mol/L);氢氧化钠(1 mol/L);磷酸三丁酯(Tributyl phosphate, TBP, 上海化学试剂公司);癸二酸二乙酯(Diethyl sebacate, DES);癸二酸二丁酯(Dibutyl sebacate, DBS);高真空油脂(上海玻璃厂);超纯水。

1.1.3 试验仪器。电子分析天平(FA1104,上海越平科学仪器有限公司);紫外分光光度计(UV-2600, SHIMADZU);10~

基金项目 河南省科技厅农业科技攻关项目“高效复合型农药助剂研发”(162102110111)。

作者简介 于倩倩(1992—),女,河南郑州人,硕士研究生,研究方向:植物生理营养与保护。*通讯作者,教授,从事植物生理营养与保护学研究。

收稿日期 2018-06-12

100 μL 移液枪 (Eppendorf); 100~1 000 μL 移液枪 (Eppendorf); 智能人工气候箱 (RXZ 型), 宁波江南仪器厂; SH2-D (III) 循环水式真空泵, 河南省予华仪器有限公司; KQ-50E 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 保鲜膜; 1 mL 注射器, 姜堰市新苏医疗器械有限公司; 自制卡玛; 打孔器; 100 mL 容量瓶 (棕色)。

1.2 试验方法

1.2.1 离体角质膜的制备。

1.2.1.1 配制纤维素酶、果胶酶混合溶液。称取 1.00 g 纤维素酶在 100 mL 甘油与水混合溶液中溶解, 甘油与水的比例为 5:8, 混合后得到纤维素酶溶液。称取 2.00 g 柠檬酸并量取 36 mL 纤维素酶溶液、100 mL 果胶酶溶液, 将三者混合均匀后, 用磁力搅拌器混合均匀后置于 1 000 mL 容量瓶中定容至 1 000 mL, 用 NaOH 和 KCl 调节 pH 至 4.0。

1.2.1.2 脱离苹果角质膜。将表皮无破损的苹果洗净, 用直径 1 cm 的自制打孔器在苹果表皮上打孔, 用消毒过后的小刀将打好的苹果皮完整削下来泡在配制好的纤维素酶、果胶酶混合溶液中, 并滴加 3~4 滴升汞 (防止苹果皮发霉), 混合均匀后, 用保鲜膜封口, 放置在室温约 25 $^{\circ}\text{C}$ 环境中, 等苹果角质膜与苹果果肉完全分开, 用清水将果肉冲洗干净, 得干净苹果角质膜, 将得到的角质膜完全铺展在干燥的塑料展板上, 在室内自然晾干, 密封保存, 备用。

1.2.2 试验设计。

1.2.2.1 样品的制备。采用三因素交叉试验。在自制卡玛涂抹适量的高真空油脂, 将角质膜光面朝下黏附在与其直径相同的卡玛上, 在角质膜朝上的面 (内表面) 滴加 10 μL 不同浓度的草甘膦标准溶液, 待草甘膦溶液水分蒸发至无可见液滴, 在角质膜的上表面用剪过针头 (防止扎破角质膜) 的注射器定量吸取注入 0.5 mL 不同种类复合助剂, 同时在空白对照组定量吸取注入 0.5 mL 1:1 甲醇水溶液。卡玛上下的孔均用胶带密封, 保持湿度为 100%。将上述卡玛放入设定好温度的恒温培养箱中, 在 24、48、72 h 分别将卡玛内溶液取出放入 0.4 mL 离心管内。

1.2.2.2 亚硝基化反应。用移液枪定量吸取 0.4 mL 至 5 mL 离心管内, 加 1 mL 蒸馏水, 再依次加入适量 50% H_2SO_4 、250 g/L KB_i 溶液, 充分混合后, 加入 6.9 g/L NaNO_2 溶液, 立刻拧紧瓶塞, 充分摇匀, 在室温下静置反应 30 min, 用蒸馏水稀释至刻度, 定容。

1.2.2.3 测定。打开仪器, 预热 20 min, 待仪器稳定后, 设定波长 240 nm, 以空白溶液为参比, 测定样品在 OD_{240} 的吸光度。

2 结果与分析

2.1 草甘膦标准曲线 使用分析天平称取 0.040 0 g 草甘膦标准品, 溶于水中, 配制 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品溶液。使用移液枪分别取 125、250、500、750、1 000、1 250、1 500、1 750 μL 标准品溶液于 100 mL 容量瓶中, 加入约 30 mL 水后, 依次加入 2 mL 50% 硫酸、1 mL 250 g/L 溴化钾、2 mL 6.9 g/L 亚硝酸钠后混合均匀, 盖上瓶塞反应 30 min 进行衍生, 之后用超纯

水定容至 100 mL, 得到 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的草甘膦标准溶液。衍生条件参考汪海萍等^[13]的方法。使用紫外分光光度计测量 OD_{240} ^[14]。以草甘膦浓度为横坐标, OD_{240} 为纵坐标, 绘制标准曲线 (图 1)。

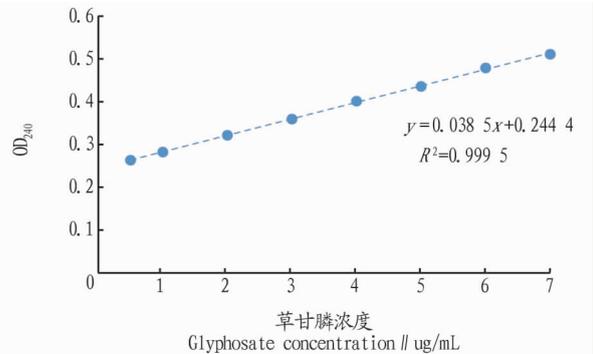


图 1 草甘膦标准曲线

Fig. 1 Glyphosate standard curve

2.2 不同因素对草甘膦渗透的影响

2.2.1 不同草甘膦浓度对草甘膦渗透的影响。在温度 20 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 100% 条件下, 分别使用 2.0、4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的草甘膦, 测试对照组、复合型助剂 I 以及复合型助剂 II 样品在 OD_{240} 的吸光度。由表 1 可知, 无论添加助剂与否, 在相同条件下, 滴加 4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 草甘膦样品的吸光度均高于滴加 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 草甘膦的样品, 可以推断, 4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 草甘膦渗透效果高于 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 草甘膦。

表 1 不同浓度草甘膦的检测值

Table 1 OD_{240} of glyphosate in different concentrations

| 农药助剂 Pesticide adjuvant | 浓度 Concentration $\mu\text{g}/\text{mL}$ | OD_{240} | | |
|---|--|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | 24 h | 48 h | 72 h |
| 对照 CK | 2.0 | 0.196 \pm 0.015 | 0.198 \pm 0.018 | 0.207 \pm 0.059 |
| | 4.0 | 0.228 \pm 0.013 | 0.250 \pm 0.002 | 0.263 \pm 0.010 |
| 复合型助剂 I Composite aux- iliaries I | 2.0 | 0.248 \pm 0.021 | 0.259 \pm 0.051 | 0.275 \pm 0.006 |
| | 4.0 | 0.268 \pm 0.011 | 0.310 \pm 0.033 | 0.311 \pm 0.006 |
| 复合型助剂 II Composite aux- iliaries II | 2.0 | 0.218 \pm 0.051 | 0.242 \pm 0.033 | 0.269 \pm 0.057 |
| | 4.0 | 0.255 \pm 0.042 | 0.266 \pm 0.020 | 0.275 \pm 0.014 |

2.2.2 不同时间对草甘膦渗透的影响。由图 2 可知, 在相同温度、相同湿度下, 滴加同一浓度的草甘膦, 随着时间的延长, 样品的 OD_{240} 也随之增加, 说明随着时间的延长, 草甘膦的渗透量也在增加, 且复合助剂 I > 复合助剂 II > 空白对照。

2.2.3 不同温度对草甘膦渗透的影响。由表 2 可知, 在相同时间、同一浓度的草甘膦条件下, 使用对照、复合型助剂 I、复合型助剂 II, 草甘膦在苹果角质膜上渗透量的 OD_{240} 随着温度的升高而逐渐增加, 在 30 $^{\circ}\text{C}$ 时, 3 个组合的 OD_{240} 均最大。

3 结论与讨论

(1) 在苹果角质膜上进行草甘膦的渗透试验时, 草甘膦自身的浓度对其渗透量也有影响。在同一温度、同一种农药助剂、渗透时间相同的条件下, 4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 草甘膦在苹果角质膜上的渗透量比 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 草甘膦渗透量更大。

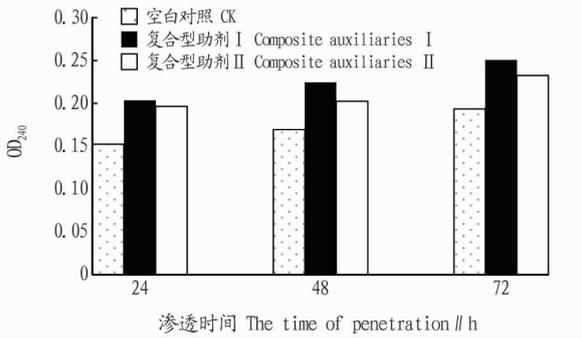


图2 15 °C 草甘膦在苹果角质膜上的渗透量

Fig. 2 The osmotic quantity of glyphosate through the cuticle of apple at 15 °C

表2 不同温度草甘膦的检测值

Table 2 The value of OD₂₄₀ of glyphosate in different temperatures

| 农药助剂 Pesticide adjuvant | 温度 Temperature °C | OD ₂₄₀ | | |
|---|-------------------------|-------------------|-------------|-------------|
| | | 24 h | 48 h | 72 h |
| CK | 15 | 0.152±0.010 | 0.168±0.007 | 0.193±0.054 |
| | 20 | 0.196±0.015 | 0.202±0.016 | 0.232±0.028 |
| | 25 | 0.240±0.032 | 0.276±0.028 | 0.329±0.027 |
| | 30 | 0.292±0.007 | 0.315±0.024 | 0.333±0.031 |
| 复合型助剂 I Composite auxiliaries I | 15 | 0.200±0.013 | 0.224±0.035 | 0.249±0.063 |
| | 20 | 0.248±0.021 | 0.259±0.051 | 0.275±0.006 |
| | 25 | 0.272±0.018 | 0.348±0.028 | 0.363±0.025 |
| | 30 | 0.317±0.042 | 0.359±0.064 | 0.387±0.028 |
| 复合型助剂 II Composite auxiliaries II | 15 | 0.196±0.017 | 0.202±0.016 | 0.232±0.028 |
| | 20 | 0.218±0.051 | 0.242±0.033 | 0.269±0.057 |
| | 25 | 0.259±0.048 | 0.317±0.013 | 0.348±0.048 |
| | 30 | 0.304±0.024 | 0.334±0.050 | 0.363±0.048 |

(2)在相同温度、相同湿度条件下,使用相同农药助剂,随着时间的延长,草甘膦在苹果角质膜上的渗透量随之增加,在72 h时,OD₂₄₀达到最大,草甘膦的渗透量达到最大。

(3)在相同湿度、相同时间条件下,使用同种农药助剂,草甘膦在苹果角质膜上的渗透量随着温度的升高而逐渐加

大,在4个温度梯度(15、20、25、30 °C)下,30 °C时草甘膦的渗透量达到最大。

(4)在相同温度、相同时间、相同浓度的草甘膦条件下,使用不同配比的复合型助剂,与空白对照(CK)比较,添加复合型助剂 I、II 溶液的样品,草甘膦在苹果角质膜上的渗透量均大于空白对照(CK),其中使用复合型助剂 I 的促进效果最好,促进草甘膦渗透的作用更强。

参考文献

- [1] 陈晓明,王程龙,薄瑞. 中国农药使用现状及对策建议[J]. 农药科学与管理,2016,37(2):4-8.
- [2] 苏少泉. 草甘膦述评[J]. 农药,2005,44(4):145-149.
- [3] 卢信,赵炳梓,张佳宝,等. 除草剂草甘膦的性质及环境行为综述[J]. 土壤通报,2005,36(5):785-790.
- [4] JENKS M A, JOLY R J, PETERS P J, et al. Chemically induced cuticle mutation affecting epidermal conductance to water vapor and disease susceptibility in *Sorghum bicolor* (L.) Moench[J]. Plant physiology, 1994, 105(4):1239-1245.
- [5] 任海静,李正,王艳平,等. 一种环境友好型多功能助剂在农药增效中的应用[J]. 农药,2010,49(4):255-256.
- [6] 刘明西. 农药助剂与除草剂减量防治大豆田杂草效果研究[J]. 乡村科技,2018(3):87-89.
- [7] 李建群,杨强,潘秋波,等. 农药助剂与农药减量防治稻麦病虫害效果探析[J]. 中国农技推广,2017,33(7):54-56.
- [8] TSUBAKI S, SAKUMOTO S, UEMURA N, et al. Compositional analysis of leaf cuticular membranes isolated from tea plants (*Camellia sinensis* L.) [J]. Food chemistry, 2013, 138(1):286-290.
- [9] SHI T, SIMANOVA E, SCHÖNHERR J, et al. Effects of accelerators on mobility of ¹⁴C-2,4-dichlorophenoxy butyric acid in plant cuticles depends on type and concentration of accelerator [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2005, 53(6):2207-2212.
- [10] 吴志凤,刘贤进. 我国农药助剂工业发展与管理概况[J]. 农药科学与管理,2014,35(12):23-26.
- [11] 朱墨. 表面活性剂对赤霉素和铁元素在植物表面吸收作用的研究[D]. 郑州:郑州大学,2014.
- [12] SCHREIBER L. A mechanistic approach towards surfactant/wax interaction: Effects of octaethyleneglycolmonododecylether on sorption and diffusion of organic chemicals in reconstituted cuticular wax of barley leaves [J]. Pest management science, 1995, 45(1):1-11.
- [13] 汪海萍,邵燕,王志良,等. 分光光度法测定废水中草甘膦的探讨[J]. 环境监测管理与技术,2012,24(3):56-59.
- [14] 李国鹏,周彩荣,石晓华,等. 分光光度法测定草甘膦生产废水中草甘膦和甘氨酸的含量[J]. 郑州大学学报(理学版),2012,44(2):81-84.

(上接第92页)

(4)相关性分析表明,pH和有有机质是影响磷转化的重要因素。

参考文献

- [1] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京:中国农业出版社,2004:199-203.
- [2] 王静怡. 小流域土壤磷素空间分布特征及流失风险评价[D]. 首都师范大学,2007.
- [3] 李斯凡. 巢湖流域土壤与河、湖沉积物磷的空间分布及其影响因素[D]. 南京:南京大学,2012.
- [4] 周慧平,高超,孙波,等. 巢湖流域土壤全磷含量的空间变异特征和影响因素[J]. 农业环境科学学报,2007,26(6):2112-2117.
- [5] 周慧平,高超,王登峰,等. 巢湖流域农田土壤磷吸附持指数及吸附饱和度和特征[J]. 农业环境科学学报,2007,26(S2):386-389.

- [6] SHARPLY A N, WITHERS P J A. The environmentally-sound management of agricultural phosphorus [J]. Fert Rea, 1994, 39(2):133-146.
- [7] 吕家珑. 农田土壤磷素淋溶及其预测[J]. 生态学报,2003,23(12):2689-2704.
- [8] 杨学云, BROOKES P C, 李生秀. 土壤磷淋失机理初步研究[J]. 植物营养与肥料学报,2004,10(5):479-482.
- [9] 张铁钢,李占斌,李鹏,等. 土石山区小流域土壤磷素的空间分布特征与有效性[J]. 环境科学学报,2016,36(5):1810-1815.
- [10] 于丹,张克强,王凤,等. 天津黄潮土剖面磷素分布特征及其影响因素研究[J]. 农业环境科学学报,2009,28(3):518-521.
- [11] 陈刚才,甘露,王仕禄,等. 土壤中元素磷的地球化学[J]. 地质地球化学,2001,29(2):78-81.
- [12] 高丽丽. 西藏土壤有机质和氮磷钾状况及其影响因素分析[D]. 雅安:四川农业大学,2004.

本刊提示 文稿题名下写清作者及其工作单位名称、邮政编码;第一页地脚注明第一作者简介,格式如下:“作者简介:姓名(出生年—),性别,籍贯,学历,职称或职务,研究方向”。