

温度对对氨基苯磺酸钠复合物形成及分解的影响*

陈国杰

林孔勋

(湛江动植物检疫所)

(植保系)

提 要

温度显著地影响花生体内对氨基苯磺酸钠复合物的形成。根部浸药的花生小苗在35℃时体内形成对氨基苯磺酸钠复合物的量极显著高于17、25、30、32和40℃。花生离体叶酸合成酶的试验结果与小苗试验结果基本一致,都表明较高温度有利于对氨基苯磺酸钠复合物的形成。当温度达35℃左右复合物形成的量达最大值。这与田间观察到的高温容易产生药害是基本一致的。这说明形成对氨基苯磺酸钠复合物与药害的产生有密切的内在联系。

对氨基苯磺酸钠复合物在60℃时显著分解,在50℃以下较稳定。温度对复合物分解曲线呈S型,其方程为:

$$X = 159.91 / (1 + e^{6.6634 - 0.1025}) + 396$$

关键词 对氨基苯磺酸钠;对氨基苯磺酸钠复合物;花生;叶酸合成酶系

引 言

早在五、六十年代,国内外的学者就证实了对氨基苯磺酸及其钠盐对小麦杆锈病的防治效果^{[8][4][12]}。近年来林孔勋和郑仲等^{[1][2][6][7]}的试验结果表明,对氨基苯磺酸钠对花生锈病和长豇豆锈病有显著的防治效果,但对花生容易产生药害,并且产生药害与气温有密切关系,当温度达34℃时极易产生药害,而在30℃以下则较为安全^[6]。温度较高容易产生药害的原因还不明确。

对氨基苯磺酸钠产生药害的症状是叶片不绿,同时叶酸的含量也大大减少^{[8][8]}。Lin和Chen^[11]认为植物体内叶绿素的减少与叶酸生物合成受抑制有关。张炼辉^[8]的试验又表明,对氨基苯磺酸钠在花生体内会形成一种复合物,并与叶酸合成受抑制密切相关。本研究的目的是:(1)拟通过了解温度对花生体内及离体条件下叶酸合成酶系酶促形成对氨基苯磺酸钠复合物的影响,阐明这种复合物形成与经喷施对氨基苯磺酸钠后在较高温

*本文承中山大学黄文洪教授、华南农业大学李明启教授审阅全文并提了宝贵意见,华南农业大学张炼辉老师对本研究的试验工作提了许多有益建议,郑仲副教授对本研究的试验工作给予帮助,王振中博士帮助对部分试验结果进行统计分析,对上述同志们给予的各方面指导和帮助均在此谨致谢忱。

1988年5月26日收稿。

条件下出现不绿症状的药害两者之间的关系；(2)测定对氨基苯磺酸钠复合物热稳定性。

材料和方法

1. 供试植物：花生(粤油551—116, *Arachis hypogaea* Linn.)盆栽小苗，长至4片复叶时施药。

2. 供试药剂：对氨基苯磺酸钠(含量为97%的工业品)。

3. 施药方法：采用浸药方法，把长有4片复叶的花生小苗连根拔起，用清水洗干净后把根浸于0.33%对氨基苯磺酸钠水溶液中。

4. 主要试剂及使用浓度：皂素(纯品, E MERCK AG DARMS TADT), 0.2% (重量/容量, 以下同)

三氯乙酸(化学纯, 广州化学试剂厂), 30%

亚硝酸钠(分析纯, 广州化学试剂厂), 0.1%

N—甲基苯乙二胺(分析纯, 西德MERCK公司), 0.5%

磷酸二氢钾, 磷酸氢二钾(均为化学纯, 广州化学试剂厂), $0.2\text{mole}\cdot\text{l}^{-1}$ 缓冲液 (pH7.2)

氨基磺酸铵(分析纯, 广州化学试剂厂), 0.1%

硫酸镁(分析纯, 广州化学试剂厂), $1\times 10^{-3}\text{mole}\cdot\text{l}^{-1}$

ATP二钠注射液(广州天心制药厂)

5. 温度影响花生体内形成对氨基苯磺酸钠复合物量的测定：把浸在对氨基苯磺酸钠水溶液中的花生小苗，分别置于17、25、30、32、35和40℃的培养箱中，处理24小时后分别取第4片复叶300mg，磨碎后加15ml磷酸缓冲液，离心15分钟(3000×g)取上清液，从中吸取10ml，加5ml三氯乙酸，加5ml皂素，离心15分钟(3000×g)，取上清液即为叶组织提取液。按张炼辉和林孔勋^[9]的方法测定复合物中对氨基苯磺酸钠的量。

6. 叶酸合成酶系的提取及酶促形成对氨基苯磺酸钠复合物的测定：花生叶酸合成酶系的提取，主要参考Shiota^[13]和Wolf^[14]提取细菌叶酸合成酶系的方法及张炼辉^[9]的方法。

酶促反应试验主要参考张炼辉^[9]和Brown等^[10]及Shiota^[13]叶酸离体合成法，并结合本研究的特定要求稍加修改。在40ml酶的粗提液中加入20μgATP及2μmole硫酸镁，加2ml对氨基苯磺酸钠，摇匀后分别吸10ml于4个烧杯中，分别置于20、25、30和35℃的培养箱中反应1小时，然后加5ml三氯乙酸，5ml皂素，离心15分钟(3000×g)，取上清液，按张炼辉和林孔勋^[9]方法测定复合物中对氨基苯磺酸钠的量。

7. 花生体内的对氨基苯磺酸钠复合物热稳定性测定：称经对氨基苯磺酸钠处理的花生第4片复叶600mg，制成组织提取液(按上述5的方法)。分别吸取2ml组织提取液，加入有编号的试管中，各加2ml三氯乙酸，分别置于50、60、70、80、90和100℃的水浴锅中处理45分钟，并以室温(25℃)处理作对照，按张炼辉和林孔勋^[9]方法测定各种处理条件下游离的对氨基苯磺酸钠的量。

8. 试验结果的分析方法: 各项试验结果均用Duncan's 复合分级显著性进行分析, 检验各不同处理间的差异。

试验结果

(一) 温度对花生体内形成对氨基苯磺酸钠复合物的影响

试验结果(表1)表明, 在35℃时花生体内形成对氨基苯磺酸钠复合物的量显著高于其它几种处理(17、25、32、40℃)。试验结果说明: (1) 较高温度有利于复合物的形成, 随着温度的升高, 形成复合物的量逐渐增加, 35℃左右达最大值, 在40℃下急剧下降。(2) 温度对复合物形成的影响存在临界点, 即温度升到一定高度时, 形成复合物的量剧增。从表1可以看到温度影响复合物形成的临界点在接近35℃处。

表1 温度对花生体内对氨基苯磺酸钠复合物*形成的影响**

处理温度 (℃)	17	25	30	32	35	40
复合物中对氨基苯磺酸钠含量 (μg/g鲜叶)	130.91d	134.51cd	153.25c	227.27b	353.23a	80.19e

* 复合物的含量以其中含的对氨基苯磺酸钠量表示

** 表中的数值为三个重复的平均值, 数字后面有相同字母的差异不显著。(p=0.05)

(二) 温度对花生叶酸合成酶系离体酶促形成对氨基苯磺酸钠复合物的影响

为了进一步了解温度对花生体内形成对氨基苯磺酸钠复合物的影响, 比较体内和离体条件下温度对该复合物影响是否一致, 进行了本项试验。

试验结果(表2)表明, 温度对花生离体酶系和活体内形成对氨基苯磺酸钠复合物具有一致性。由此看来, 温度对花生体内对氨基苯磺酸钠复合物形成的影响主要是以影响酶活性来实现的。Wolf⁽¹⁴⁾在细菌的离体叶酸合成酶系中发现, 有些菌株在37℃时酶促形成叶酸类衍生物的量最多。这与本研究的结果很相似。

表2 温度对花生叶酸离体酶促形成对氨基苯磺酸钠复合物*的影响**

处理温度 (℃)	20	25	30	35
复合物中对氨基苯磺酸钠含量 (μg/g鲜叶)	5.33c	5.55bc	6.13b	7.67a

* 复合物的含量以其中含的对氨基苯磺酸钠量表示

** 表中的数值为三个重复的平均值, 数字后面有相同字母的差异不显著。(P=0.05)

(三) 对氨基苯磺酸钠复合物热稳定性测定

试验结果(表3和图1)表明, 随着温度的升高对氨基苯磺酸钠复合物分解情况可用如下方程描述:

$$X = 159.91 / [1 + e^{(6.6484 - 0.1035t)}] + 396$$

式中 X = 游离对氨基苯磺酸钠的量(μg/g鲜叶), t = 处理温度(℃), 396是复合物未分

解时溶液中游离对氨基苯磺酸钠的量 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 鲜叶), 此方程为S型曲线。

对上述方程微分求分解速率方程, 可知复合物分解速率曲线为钟状, 在 $t=65^\circ\text{C}$ 时分解速率最大。

从表3中可以看到, 从 25°C 至 50°C 对氨基苯磺酸钠复合物分解是不大显著的, 这说明复合物还是较稳定的。

表3 对氨基苯磺酸钠复合物在不同温度下分解量*

处理温度 ($^\circ\text{C}$)	25 (对照)	50	60	70	80	90	100
游离对氨基苯磺酸钠含量 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 鲜叶)	398.31d	421.59cd	462.07bc	478.58b	533.38a	542.09a	547.70a
比对照增加量 (%)	—	5.6	16.0	22.4	33.9	36.1	37.5

* 表中的数值为三次重复的平均值, 数字后面有相同字母的差异不显著。(P=0.05)

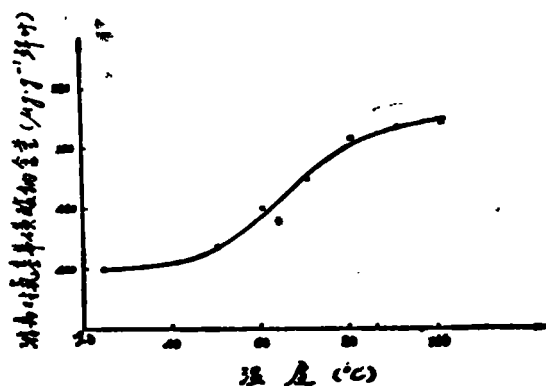


图1 温度对花生体内对氨基苯磺酸钠复合物分解的影响

讨论与结论

温对花生体内形成对氨基苯磺酸钠复合物有显著影响, 当温度达 35°C 左右时复合物量达最大值, 超过 35°C 后即迅速下降。

花生叶酸合成酶系的离体试验结果与体内试验结果很一致, 这就进一步证明了较高温度 (35°C 左右) 有利于花生体内对氨基苯磺酸钠复合物的形成。

林孔勋和郑仲等⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾在敌锈钠(对氨基苯磺酸钠)防治花生锈病的大田试验中, 发现较高温度容易引起药害, 引起药害的阈值为 34°C ⁽⁵⁾, 这与我们试验结果的较高温度 (35°C 左右) 有利于形成对氨基苯磺酸钠复合物是很一致的。本试验与林孔勋和郑仲⁽⁵⁾的试验所不同的是, 我们是采用根浸药方法施药, 而他们是叶面喷药, 但两者只是药物进入植物体内途径不一样, 与温度影响形成复合物和产生药害方面不应有什么不同。因此我们认为, 对氨基苯磺酸钠复合物的形成与药害的产生可能有密切的关系。这就在理论上说明了, 高温容易产生药害的可能原因。

对氨基苯磺酸钠复合物在温度达60℃时显著分解,100℃时分解较完全,而在50℃以下则较稳定。温度对对氨基苯磺酸钠复合物分解曲线呈S形,拐点对称;分解速率曲线为钟形,在65℃时分解速率最大。本研究的结果对分离、提纯对氨基苯磺酸钠复合物以及对其作进一步组份分析等研究提供了一个操作温度条件。

有很多试验^{[8]、[9]、[11]}表明,花生体内叶酸生物合成的抑制与叶绿素生物合成受抑制可能存在相关性,而形成对氨基苯磺酸钠复合物的量与叶酸合成受抑制又是有相联的^[8],因而本文的试验结果也为Lin和Chen^[11]提出的叶绿素生物合成受抑制可能是叶酸生物合成受抑制而引起的假说提供了一些间接的依据。

引用文献

- [1] 广东农林学院植保系化保组. 油料作物科技, 1976; (1): 64—74
- [2] 广东农林学院植保系植病教研组. 广东科技(农业部分), 1977; (1): 22—23, 36
- [3] 何家泌, 朱拙安, 龙国信, 刘智英, 潘仁瑞, 张中涛, 喻选侠, 张秀芸. 植物保护学报, 1984; 3(4): 377—386
- [4] 陆师义, 范桂芳, 潘仁瑞, 蔡妙英, 李石年, 俞习明, 陈延钟, 李荣祥, 罗振庄. 植物病理学报, 1980; 6(1): 1—7
- [5] 林孔勋, 郑仲. 华南农学院学报, 1980; 1(2): 73—85
- [6] 陈仪本, 林孔勋. 华南农学院学报, 1984; 5(1): 72—79
- [7] 郑仲, 林孔勋, 毛瑞昌, 梁铁汉. 华南农学院学报, 1983; 4(3): 8—15
- [8] 张炼辉. 华南农业大学硕士学位论文, 1985: 1—55
- [9] 张炼辉, 林孔勋. 华南农业大学学报, 1986; 7(4): 29—34
- [10] Brown, G. M., Weisman, R. A., and Nolnar, D. A. 1961. J. Biochem. Chem. 236(9): 2534—2545
- [11] Lin, K. H. and Chen, Y. B. 1985. Pesticide Biochem. and Physiol. 23: 205—211
- [12] Livingston, J. E. 1953. Phytopath. 43: 496—499
- [13] Shlota, T. 1959. Biochem. Biophys. 80: 155—161
- [14] Wolf, B. and Hotchkiss, R. D. 1963. Biochem. 2(1): 14—150

EFFECT OF TEMPERATURE ON THE FORMATION AND DECOMPOSITION OF
SODIUM SULFANILATE-CONJUGATE

Chen Guojie

(Zhan Jiang Animal and Plant
Quarantine Services)

Lin Kung-Hsun

(South China Agricultural
University)

ABSTRACT

The roots of groundnut seedlings were immersed in 0.33% sodium sulfanilate solution for 24 hr. The formation of sodium sulfanilate-conjugate at different temperatures was studied. The amount of the conjugate was found to be the largest at 35°C, while those at 17, 25, and 30°C were nearly at the same level, being significantly smaller. The results agreed well with field observations on the effect of temperature on the toxicity of the test compound to groundnut plants that its phytotoxicity was most serious at 34°C.

The conjugate was not stable at high temperatures, the rate of decomposition being the highest around 65°C. However, it was found to be stable at temperatures lower than 50°C.

Key words: Sodium sulfanilate, Sodium sulfanilate-conjugate, Folic acid synthetases, Groundnut