

基于生理指标早期诊断异丙隆对小麦药害的研究

孟丹丹¹, 范洁群^{2*}, 郭水良¹, 马晓英¹, 陈倩¹, 彭泽川⁴, 李涛^{2,3*}

(1. 上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234; 2. 上海市农业科学院, 上海 201403;

3. 上海低碳农业工程技术研究中心, 上海 201415; 4. 安顺学院农学院, 安顺 561000)

摘要 为了早期诊断异丙隆对小麦的药害, 采用室内生测的方法测定了不同剂量异丙隆作用下小麦株高、地上部鲜重、叶绿素、丙二醛(MDA)、可溶性糖、脯氨酸(Pro)含量和最大光量子产量(F_v/F_m)。结果表明, 除可溶性糖外, 叶绿素、MDA、Pro、 F_v/F_m 均能快速响应异丙隆对小麦的胁迫。当 50% 异丙隆 WP 施用剂量 $\geq 3\ 000\ \text{g/hm}^2$ 时, 叶绿素 a、b、总叶绿素含量和 F_v/F_m 明显下降, Pro 含量明显上升, 与清水对照相比均达显著水平, MDA 含量随着施药剂量的增加而逐渐上升, 当剂量 $\geq 2\ 250\ \text{g/hm}^2$ 时, 小麦 MDA 含量显著高于清水对照处理; 叶绿素、MDA、Pro、 F_v/F_m 可作为诊断异丙隆对小麦药害的敏感指标。

关键词 异丙隆; 小麦; 药害; 早期诊断; 最大光量子产量

中图分类号: S 482.4 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2018417

Early diagnosis of isoproturon phytotoxicity on wheat seedlings based on physiological indices

MENG Dandan¹, FAN Jiequn², GUO Shuiliang¹, MA Xiaoying¹, CHEN Qian¹, PENG Zechuan⁴, LI Tao^{2,3}

(1. College of Life and Environmental Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China;

2. Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China; 3. Shanghai Engineering

Research Centre of Low-carbon Agriculture, Shanghai 201415, China; 4. College of

Agriculture, Anshun University, Anshun 561000, China)

Abstract For early diagnosis of isoproturon phytotoxicity on wheat seedlings, the plant height, shoot fresh weight, chlorophyll, malondialdehyde (MDA), soluble sugar, proline (Pro) content and F_v/F_m were measured by dose-response experiments in the glasshouse. The results showed that chlorophyll, MDA, Pro content and F_v/F_m except soluble sugar could rapidly respond to isoproturon stress in wheat seedlings. After being treated with isoproturon 50% WP at $3\ 000\ \text{g/hm}^2$ or more, chlorophyll content and F_v/F_m decreased significantly and Pro content increased significantly. The MDA content gradually increased with the increase of isoproturon dosage, after being treated with isoproturon at $2\ 250\ \text{g/hm}^2$ or more; the MDA content was significantly higher than the control. Chlorophyll, MDA, Pro, F_v/F_m can be used as sensitive indicators for early diagnosis of isoproturon phytotoxicity on wheat seedlings.

Key words isoproturon; wheat; phytotoxicity; early diagnosis; maximal photochemical efficiency

杂草管理是农业生产系统中追求高产和优质的重要措施。化学除草因具有方便、高效的优点, 是目前应用最广泛的杂草管理方法, 是现代化农业必不可少的技术^[1-2]。但是随着化学除草面积、用量和残留的增大, 除草剂引起作物药害的现象时有发生, 给

农业生产带来了损失。除草剂药害发生具有广泛性和普遍性, 已经在水稻、小麦、玉米、棉花、大豆、西瓜、蔬菜和中药材等不同作物田中发生, 涉及几乎所有的除草剂种类。作物发生除草剂药害后, 人们会通过洗田排毒、追施速效肥料、喷施生长调节剂等来

收稿日期: 2018-09-27 修订日期: 2018-11-16

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0200500); 国家科技重大专项(2017ZX07202004-004); 上海市科委国内合作计划(18295810500); 上海市科技兴农推广项目[沪农科推字(2018)第4-14号]; 上海市农业科学院卓越团队建设计划[农科创 2017(A-03)]; 上海市种业发展项目[沪农科种字(2017)第1-2]

* 通信作者 E-mail: 18201791220@163.com; 42979346@qq.com

减轻药害症状,降低产量损失。但是,这些补救措施的效果很大程度上依赖于对除草剂药害的早期诊断^[3-4]。如何有效地早期诊断除草剂对作物的药害,是当前农业生产中急需解决的一个重要问题。刘德好等^[5]研究了基于根系形态的除草剂药害早期诊断技术,取得了较好的效果。伍琳^[6]研究了异丙隆作用下小麦生理指标的变化情况。利用生理指标快速响应来诊断除草剂药害,尚没有相关的研究报道。

异丙隆属取代脲类内吸传导型除草剂,药剂被杂草吸收后积累在叶片中,抑制光合作用,导致杂草死亡,是小麦田应用最广的除草剂品种之一^[7]。据报道,施用 50% 异丙隆可湿性粉剂超过 1 125 g/hm² 时,10~15 d 左右会导致小麦叶片发黄、植株矮化,施药后如遇低温条件,药害症状更明显^[8]。本研究以小麦为对象,研究异丙隆作用下小麦形态特征、抗逆有关的生理指标的变化特点,寻找出能快速反映异丙隆对小麦药害的敏感指标,为小麦田除草剂药害的早期干预提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

供试作物:小麦‘扬麦 11’,购于上海市农业科学院庄行综合试验站。

供试药剂:50% 异丙隆可湿性粉剂(WP),江苏快达农化股份有限公司生产。

仪器:ASS-4 型生测喷雾台,北京农业信息技术研究中心;DU-800 核酸蛋白分析仪,美国 BECK-MAN 公司;冷冻研磨仪,上海必盛生物科技有限公司;恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司;5427 R 台式高速离心机,德国 Eppendorf 公司;MINI-PAM 便携式叶绿素荧光仪,德国 WALZ 公司。

1.2 试验设计

采用室内盆栽试验,在口径 9 cm 的黑色塑料钵内装入 5 cm 深的消毒土,然后放入装有水的搪瓷盘中,让水逐渐渗入,待土吸足水分,每盆播种小麦 15 粒,覆土 0.5~1 cm,置于温室内培养,温度 15~20℃,相对湿度 65%~85%,待小麦长至 2~3 叶期,间去弱小苗,每盆定苗至 10 株,然后进行茎叶喷雾处理。50% 异丙隆 WP 设 750、1 500、2 250、3 000、3 750 g/hm² (有效成分,下同)共 5 个剂量,另设清水对照处理,每处理重复 4 次。施药工具为北京农业信息技术研究中心生产的 ASS-4 型生测喷雾台,扇形喷头,喷

雾压力 0.275 MPa,喷液量 450 L/hm²。

1.3 测定方法

药后 5 d,测定小麦倒二叶的最大光量子产量(F_v/F_m)或采集小麦倒二叶测定叶绿素、丙二醛(MDA)、可溶性糖和脯氨酸(Pro)含量。叶绿素采用 95% 乙醇提取,利用比色法测定其含量^[9-10];MDA 采用三氯乙酸(TCA)提取,利用硫代巴比妥酸显色法测定含量,可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定,Pro 采用磺基水杨酸提取,利用酸性茚三酮比色法测定含量^[11]; F_v/F_m 采用 MINI-PAM 便携式叶绿素荧光仪测定,测定前让小麦暗适应 30 min。药后 10 d,测量小麦株高,并称量地上部鲜重,计算平均值。

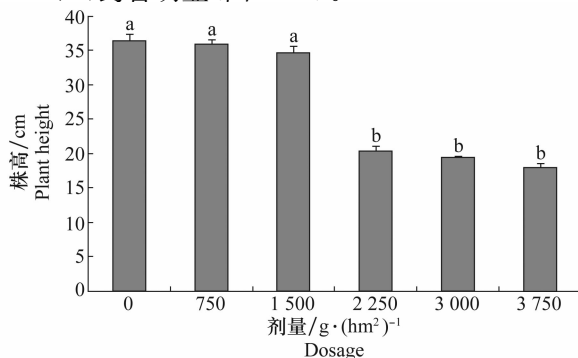
1.4 数据处理方法

试验数据运用 Microsoft Excel 2010 软件进行绘图,并采用 IBM SPSS Statistics 19 统计软件对数据进行方差分析,应用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 50% 异丙隆 WP 对小麦株高和地上部鲜重的影响

药后 5 d 目测观察,50% 异丙隆 WP 750~3 750 g/hm² 处理区小麦生长正常,株高、叶色等指标与清水对照处理相比没有明显差异。随着时间的推移,药后 10 d 调查时,50% 异丙隆 WP 750、1 500 g/hm² 处理区小麦生长正常,未见异常,但 2 250、3 000、3 750 g/hm² 处理区小麦叶片发黄,植株明显矮化,小麦的株高和地上部鲜重比清水对照处理分别下降了 43.96%、46.70%、50.55% 和 43.57%、47.14%、52.14%,药害明显(图 1~2)。



不同小写字母表示在 0.05 水平的差异显著性。下同
Different lowercase letters represent significant difference at $P=0.05$.
The same below

图 1 50% 异丙隆 WP 对小麦株高的影响

Fig. 1 Effects of isoproturon 50% WP on the individual height of wheat seedlings

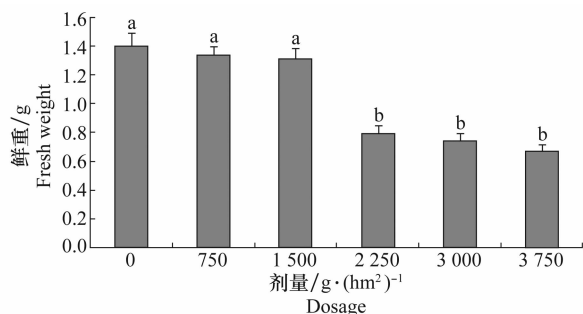


图2 50%异丙隆 WP 对小麦地上部鲜重的影响

Fig. 2 Effects of isoproturon 50% WP on the fresh weight of wheat seedlings

2.2 50%异丙隆 WP 对小麦叶绿素含量的影响

从图3可以看出,经光合作用抑制剂50%异丙隆 WP 750~3 750 g/hm² 处理后,小麦叶片的叶绿素 a、b 和总叶绿素含量均有不同程度的下降,当剂量≥3 000 g/hm² 时,叶绿素 a、b 和总叶绿素含量均显著低于清水对照处理(图3)。

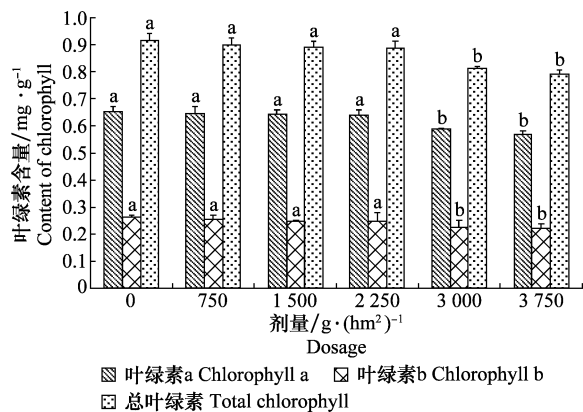


图3 50%异丙隆 WP 对小麦叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effects of isoproturon 50% WP on chlorophyll content of wheat seedlings

2.3 50%异丙隆 WP 对小麦 F_v/F_m 的影响

图4表明,清水对照处理区小麦具有最大的潜在光合能力,经50%异丙隆 WP 处理后, F_v/F_m 随着施药剂量的增加而逐渐下降。50%异丙隆 WP 3 000、3 750 g/hm² 处理区小麦 F_v/F_m 比清水对照处理分别下降了1.30%和1.58%,达极显著水平(图4)。

2.4 50%异丙隆 WP 对小麦 MDA 含量的影响

从图5可以看出,小麦 MDA 含量随着异丙隆施药剂量的增加而逐渐上升。50%异丙隆 WP 750~3 750 g/hm² 处理区小麦 MDA 含量比清水对照处理分别增加了2.67%、3.15%、51.7%、65.4%和64.7%,当剂量≥2 250 g/hm² 时,达极显著水平(图5)。

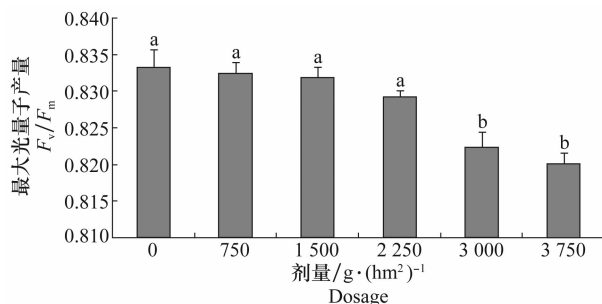
图4 50%异丙隆 WP 对小麦 F_v/F_m 的影响

Fig. 4 Effects of isoproturon 50% WP on F_v/F_m of wheat seedlings

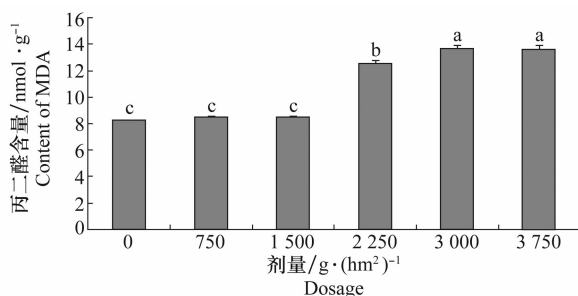


图5 50%异丙隆 WP 对小麦 MDA 含量的影响

Fig. 5 Effects of isoproturon 50% WP on the MDA content of wheat seedlings

2.5 50%异丙隆 WP 对小麦可溶性糖含量的影响

图6表明,经50%异丙隆 WP 750~3 750 g/hm² 处理后,小麦可溶性糖含量变化较小,各供试剂量处理与清水对照处理之间均无显著差异(图6)。

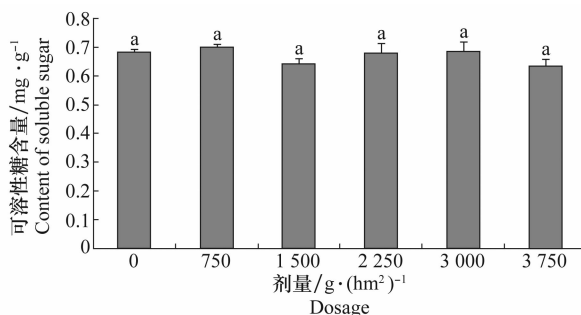


图6 50%异丙隆 WP 对小麦可溶性糖含量的影响

Fig. 6 Effects of isoproturon 50% WP on the soluble sugar content of wheat seedlings

2.6 50%异丙隆 WP 对小麦 Pro 含量的影响

由图7可以看出,经50%异丙隆 WP 750~3 750 g/hm² 处理后,小麦 Pro 含量随着施药剂量的增加而上升。50%异丙隆 WP 3 000、3 750 g/hm² 处理区小麦的 Pro 含量比清水对照处理分别增加了90.1%和86.6%,达极显著水平(图7)。

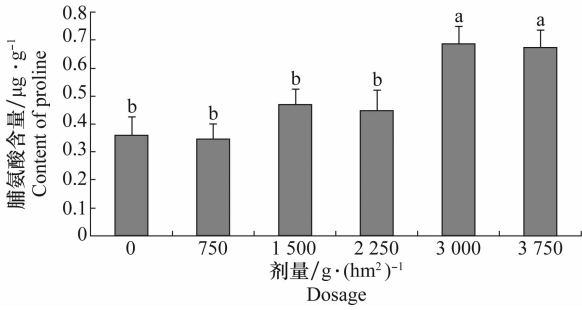


图 7 50%异丙隆 WP 对小麦 Pro 含量的影响

Fig. 7 Effects of isoproturon 50% WP on the proline content of wheat seedlings

3 讨论

施用除草剂控制杂草的同时往往对作物产生一定程度的逆境胁迫,导致作物形态特征、生理、生化和光合指标的变化^[12-13]。株高和地上部鲜重是评价除草剂药害的重要指标^[14]。叶绿素是植物光合作用重要的物质基础,其含量高低在一定程度上反映了光合作用水平,作物受到逆境胁迫时,可导致叶绿素的破坏与降解^[15-16]。 F_v/F_m 反映了植物潜在的最大光合能力,在逆境条件下,植物的 F_v/F_m 下降^[17-19]。MDA 含量直接反映了细胞膜脂过氧化程度,是药害的重要标志,MDA 含量增高说明药害加重^[20]。可溶性糖是光合作用的重要产物之一,植物在逆境条件下会主动积累一些可溶性糖,以适应外界环境条件的变化^[21-22]。Pro 是植物重要的渗透调节物质,它的积累有着对逆境适应的意义^[23-24]。本试验中,50%异丙隆 WP 施用剂量为 2 250、3 000、3 750 g/hm² 时,小麦的株高和地上部鲜重被显著抑制,药害症状明显。叶绿素 a、b 和总叶绿素含量随着 50%异丙隆 WP 施药剂量的增加,呈现出不同程度的下降,当剂量 $\geq 3 000$ g/hm² 时,叶绿素 a、b 以及总叶绿素含量均显著低于清水对照处理,这可能是因为高剂量的异丙隆处理破坏或降解了小麦的叶绿素,抑制了小麦的光合作用。 F_v/F_m 也具有类似的结果,清水对照处理区的小麦具有最大的潜在光能转化效率,随着 50%异丙隆 WP 剂量的增加, F_v/F_m 值逐渐降低,当剂量 $\geq 3 000$ g/hm² 时,达极显著水平,显著降低了小麦的潜在光能转化效率。MDA 含量随着 50%异丙隆 WP 施药剂量的增加而呈现出不同程度的上升,当剂量 $\geq 2 250$ g/hm² 时达极显著水平,表明细胞发生了较严重的膜脂过氧化反应。可溶性糖含量对异丙隆的胁迫响应不敏感,各供试

剂量处理区小麦的可溶性糖含量与清水对照处理之间没有显著差异。Pro 含量随着施药剂量的增加而上升,当剂量 $\geq 3 000$ g/hm² 时,达极显著水平,表明小麦受到了较严重的逆境胁迫。

作物受除草剂药害后首先会发生生理变化,随后才发生形态变化。本试验中,施用 50%异丙隆 WP 3 000、3 750 g/hm² 后 10 d 小麦才表现出植株矮化,叶片发黄等药害症状,但叶绿素含量、 F_v/F_m 、MDA、Pro 含量在药后 5 d 已表现出显著的变化。表明,叶绿素、 F_v/F_m 、MDA、Pro 均能快速响应异丙隆对小麦的胁迫,可作为早期诊断异丙隆对小麦药害的敏感指标。可溶性糖含量与异丙隆施用剂量之间相关性不显著,说明不同的指标在诊断除草剂早期药害时敏感性不同。筛选能够指示除草剂药害的敏感生理、光合指标,对于构建早期诊断除草剂药害的技术体系至关重要。

筛选出能够指示除草剂药害的敏感生理指标后,如何对这些指标进行快速的测定,是早期诊断除草剂药害的关键。便携式测定仪器的出现为快速测定相关指标提供了可能,如便携式叶绿素荧光仪和叶绿素测定仪可快速、高效、无损地检测植物的 F_v/F_m 和叶绿素含量。此外,除草剂药害引起作物的生理变化可应用光谱技术进行定量检测。孔汶汶等^[25]应用光谱技术检测了除草剂作用下大麦叶片中 MDA 含量的变化;郭翔^[26]发现大麦植株的 MDA、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸总量等与丙酯草醚处理浓度呈明显的剂量关系,并能够用红外光谱技术进行建模。本文初步筛选出了快速诊断异丙隆对小麦药害的生理指标。今后将进一步开展研究,寻找出反映异丙隆作用下小麦植株生理指标变化相关的光谱波段和特征参数,为更加快速、便携式诊断异丙隆对小麦药害提供技术参数。

参考文献

- [1] AGOSTINETTO D, PERBONI L T, LANGARO A C, et al. Changes in photosynthesis and oxidative stress in wheat plants submitted to herbicides application[J]. Planta Daninha, 2016, 34(1): 1-9.
- [2] 周通,陆文静,王艳,等. 3 种除草剂对寒地水稻的生理效应研究[J]. 植物保护, 2016, 42(2): 114-118.
- [3] 高智明,张玉欣,田军. 常见除草剂药害症状诊断与补救[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(S): 25-26.
- [4] 韦建东. 东兰县除草剂的使用、药害现状及问题思考[J]. 广西植保, 2010, 23(2): 41-43.

- and desethiofipronil dissipation in California, USA, rice fields [J]. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 2010, 20(5): 972–977.
- [4] 周晓冬, 余兵, 胡进. 豆类蔬菜中氟虫腈残留分析方法的研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(S1): 211–214.
- [5] DING Liping, WEI Yunhao. Determination of pyridaben and buprofen residues in tea [J]. *Agrochemicals*, 2011, 50(5): 352–376.
- [6] 胡贝贞, 蔡海江, 宋伟华. 茶叶中氟虫腈等 8 种农药残留的液相色谱-串联质谱法测定及不确定度评定 [J]. *色谱*, 2012, 30(9): 889–895.
- [7] PERUGA A, BELTRÁN J, LÓPEZ F, et al. Determination of methylisothiocyanate in soil and water by HS-SPME followed by GC-MS-MS with a triple quadrupole [J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(22): 5271–5282.
- [8] MICHELANGELO A, STEVEN J L. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce [J]. *Journal of AOAC International*, 2003, 86(2): 412–431.
- [9] 王连珠, 周昱, 陈泳, 等. QuEChERS 样品前处理-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 66 种有机磷农药残留量方法评估 [J]. *色谱*, 2012, 30(2): 146–153.
- [10] 董静, 潘玉香, 朱莉萍, 等. 果蔬中 54 种农药残留的 QuEChERS/GC-MS 快速分析 [J]. *分析测试学报*, 2008, 27(1): 66–69.
- [11] 薄海波. 气相色谱-串联质谱正离子模式测定食品中氟虫腈和溴虫腈残留 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2013, 25(5): 431–434.
- [12] ZHU Yulong, LIU Xingang, XU Jun, et al. Simultaneous determination of spirotetramat and its four metabolites in fruits and vegetables using a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method and liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1299(14): 71–77.
- [13] LI Minmin, LIU Xingang, DONG Fengshou, et al. Simultaneous determination of cyflumetofen and its main metabolite residues in samples of plant and animal origin using multi-walled carbon nanotubes in dispersive solid-phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1300(2): 95–103.
- [14] ZHANG Di, PAN Bo, COOK R L, et al. Multi-walled carbon nanotube dispersion by the adsorbed humic, acids with different chemical structures [J]. *Environmental Pollution*, 2015, 196: 292–299.
- [15] WANG Tielong, HU Jiye, LIU Chaolun. Simultaneous determination of insecticide fipronil and its metabolites in maize and soil by gas chromatography with electron capture detection [J]. *Environmental Monitoring & Assessment*, 2014, 186(5): 2767–2774.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 189 页)

- [5] 刘德好, 李涛, 沈国辉, 等. 基于根系形态早期预警吡虫啉对水稻药害的研究 [J]. *上海农业学报*, 2014(3): 16–19.
- [6] 伍琳. 异丙隆对小麦低温耐性的影响及外源物质对冻药害的缓解效应研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [7] 赵善欢. 植物化学保护 [M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [8] 唐建明, 王勇, 方雅琴. 小麦田常用除草剂药害及其规避措施 [J]. *杂草学报*, 2009(4): 68–71.
- [9] 昌梦雨, 魏晓楠, 王秋悦, 等. 植物叶绿素含量不同提取方法的比较研究 [J]. *中国农学通报*, 2016, 32(27): 177–180.
- [10] 崔勤, 李新丽, 翟淑芝. 小麦叶片叶绿素含量测定的分光光度计法 [J]. *安徽农业科学*, 2006, 34(10): 2063.
- [11] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [12] 袁树忠, 吴进才, 徐建祥, 等. 丁草胺等除草剂对水稻生理生化影响 [J]. *植物保护学报*, 2001, 28(3): 274–278.
- [13] 王正贵, 封超年, 郭文善, 等. 麦田常用除草剂对弱筋小麦生理生化特性的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(6): 1027–1032.
- [14] 李涛. 上海地区稻田几种除草剂药害诊断和规避技术研究 [D]. 上海: 上海师范大学, 2013.
- [15] 王爱丽, 宋志慧, 程守敬. Cu^{2+} 对浮萍的毒性作用 [J]. *青岛科技大学学报(自然科学版)*, 2004, 25(1): 18–20.
- [16] 马月花. 外源油菜素内酯缓解黄瓜低氧胁迫伤害的生理机制 [D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [17] 朱艳, 田永超, 马吉锋, 等. 小麦叶片叶绿素荧光参数与反射光谱特征的关系 [J]. *作物学报*, 2007, 33(8): 1286–1292.
- [18] 王正航, 武仙山, 吕小平, 等. 小麦旗叶叶绿素含量及荧光动力学参数与产量的灰色关联度分析 [J]. *作物学报*, 2010, 36(2): 217–227.
- [19] 董彩霞, 赵世杰, 田纪春, 等. 不同浓度的硝酸盐对高蛋白小麦幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响 [J]. *作物学报*, 2002, 28(1): 59–64.
- [20] 郭秀, 郭平毅, 王宏富, 等. 冬小麦对除草剂阔世玛的耐药性研究 [J]. *农技服务*, 2009, 26(7): 44–45.
- [21] 曹红星, 张大鹏, 王家亮, 等. 低温对油棕可溶性糖转运分配的影响 [J]. *西南农业学报*, 2014, 27(2): 591–594.
- [22] 夏永恒, 崔世茂, 刘杰才, 等. CO_2 加富条件下高温对温室黄瓜可溶性糖和淀粉含量的影响 [J]. *内蒙古农业大学学报(自然科学版)*, 2013(4): 16–20.
- [23] 叶亚新, 栗冠珍. 除草剂对萝卜幼苗逆境生理指标的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2012, 40(10): 146–149.
- [24] 宋旭东, 赵桂琴. 不同种类除草剂对燕麦幼苗生理生化指标的影响 [J]. *草原与草坪*, 2015(4): 54–60.
- [25] 孔汶汶, 刘飞, 方慧, 等. 2012. 除草剂胁迫下大麦叶片丙二醛含量的光谱快速检测方法 [J]. *农业工程学报*, 28(2): 171–175.
- [26] 郭翔. 大麦对丙酯草醚的生理反应及其预测模型构建 [D]. 杭州: 浙江大学, 2010.

(责任编辑: 田 喆)