



张国宾, 冯秀杰, 周星洋, 等. 稻田除草剂残留对后茬作物烟草农艺性状和生理代谢的影响[J]. 华南农业大学学报, 2016, 37(1): 41-45.

稻田除草剂残留对后茬作物烟草农艺性状和生理代谢的影响

张国宾, 冯秀杰, 周星洋, 邓松清, 钟秋瓚, 万树青

(华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】了解稻烟轮作区稻田除草剂残留对后茬作物烟草农艺性状和生长造成的药害影响。【方法】稻田3种常用除草剂二氯喹啉酸、苄嘧磺隆和2甲4氯钠,在1/4的推荐剂量下处理土壤。分别采用DNS法(3,5-二硝基水杨酸)、活体法、比色法和愈创木酚法,测定药害烟叶中淀粉酶、硝酸还原酶、蔗糖转化酶、过氧化物酶活性的动态变化,并分析3种除草剂残留引起的烟草药害症状和对农艺性状及生理代谢的影响。【结果】在打顶至成熟期,3种除草剂均会对烟草产生药害,二氯喹啉酸对烟草叶宽有显著抑制作用,抑制率可达58.56%,对硝酸还原酶和过氧化物酶活性动态变化影响较大;苄嘧磺隆主要抑制株高和叶宽,抑制率分别达14.21%和13.74%,但对烟草生理活性影响较小,主要影响淀粉酶和过氧化物酶活性;2甲4氯钠对烟草株高、叶长和叶宽均有显著抑制作用,抑制率分别达到36.03%、32.57%和36.65%,但除了过氧化物酶外,对另外3种酶活性影响不大。【结论】稻烟轮作区稻田应该避免使用二氯喹啉酸、苄嘧磺隆和2甲4氯钠。

关键词:烟草;轮作;除草剂残留;农艺性状;生理代谢

中图分类号:S481.8

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2016)01-0041-05

Effects of paddy herbicide residues on agronomic traits and physiological metabolism of tobacco

ZHANG Guobin, FENG Xiujie, ZHOU Xingyang, DENG Songqing, ZHONG Qiuzan, WAN Shuqing
(College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】To study the effects of residual herbicides in paddy field on following tobacco agronomic traits and growth in rice and tobacco rotation district.【Method】Three common herbicides including quinclorac, bensulfuron methyl and MCPA-Na were applied to paddy field using 1/4 of recommended dosages. The dynamic changes of amylase, nitratereductase, invertaer, polyphenol oxidase and peroxidase in tobacco leaves were determined using DNS, *in vivo* test, colorimetric method and guaiacol method respectively. The effects of herbicide residues on tobacco symptoms, agronomic traits and physiological metabolism were obtained.【Result】All three herbicides were harmful to tobacco from topping stage to mature stage. Quinclorac affected tobacco plant especially in leaf width with the inhibition rate of 58.56%, and it also greatly affected the activity of nitrate reductase and peroxidase. Bensulfuron methyl mainly affected the plant height and leaf width with the inhibition rate of 14.21% and 13.74% respectively and mainly affected the activity of amylase and peroxidase with little effect on the physiological activity of tobacco. MCPA-Na affected the plant height, leaf length and width with the inhibition rate of

收稿日期:2015-03-11 优先出版时间:2015-12-07

优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20151207.1116.014.html>

作者简介:张国宾(1988—),男,硕士研究生,E-mail:124393109@qq.com;通信作者:万树青(1953—),男,教授,博士,
E-mail:wangshuqing@scau.edu.cn

基金项目:广东省烟草专卖局科技项目(201103);江西省烟草公司科技项目(201101003)

36.03%, 32.57% and 36.65% respectively, and only affected the activity of peroxidase. 【Conclusion】 Quinclorac, bensulfuron methyl and MCPA-Na should be avoided in rice and tobacco rotation system.

Key words: tobacco; crop rotation; herbicide residue; agronomic trait; physiological metabolism

烟草 *Nicotiana tabacum* L. 是我国重要的经济作物。烟区主要分布在南方各省区, 种植模式主要有烟草和水稻轮作、烟草和玉米(或其他旱地作物)轮作。水稻生长期需除草剂防治多种杂草, 目前已知可用于水稻田的除草剂达 35 种, 其中有些品种已在南方各省广泛使用, 如激素型的二氯喹啉酸、2,4-D 丁酯、2 甲 4 氯钠和磺酰脲类的苄嘧磺隆、乙氧磺隆、醚磺隆等。二氯喹啉酸具有用量少、残效期长、对稗草有特效、施用期宽等优点, 应用广泛^[1-2]。已有研究表明, 土壤中残留的二氯喹啉酸对后茬敏感作物如烟草、蚕豆、苜蓿、黄瓜等造成一定药害, 导致畸形生长^[3-7]。苄嘧磺隆选择性高, 对不同作物敏感性差异大, 其残留对后茬作物危害也较大^[8-9]。2 甲 4 氯钠具有价格低廉、药效持久且被施药杂草不易产生抗性等优点, 使其成为阔叶杂草常用的除草剂^[10-11]。因除草剂引起的烟草药害损失可达 16 500 元·hm⁻², 2011 年广东烟草种植面积为 2.43 万 hm², 比 2010 年增加 1.70%^[12], 按照 50% 受害程度计算, 仅广东省 1 年的损失就可达到 1.65 亿元。有研究表明二氯喹啉酸在稻田中 120 d 的降解量约是使用量的 80%, 残留的二氯喹啉酸通常导致烟草生长畸形, 影响其产量和品质^[13], 并且烟草叶片中与烟草品质有关的代谢酶、防御性酶以及光合作用有关色素也都与正常叶片中的差别很大^[14]。除此之外, 苄嘧磺隆、2 甲 4 氯钠残留也很容易对后茬作物如大豆、花生、小麦、玉米造成不同程度的药害^[15-17]。

打顶后成熟期是决定烟叶品质的重要时期, 烟叶中各种化学成分的平衡和协调是获得优质烟叶的基础, 烟叶外观品质的优劣是内部生理生化特征在外部的综合体现^[18]。本文分析了 3 种代表性除草剂二氯喹啉酸、苄嘧磺隆和 2 甲 4 氯钠对打顶期至成熟期烟草叶片生理指标的不同影响, 包括淀粉酶、硝酸还原酶、蔗糖转化酶和过氧化物酶, 以期修复或减轻除草剂药害提供相关理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试烟草品种为广东省南雄市烟草科学研究所提供的 K326。3 种除草剂: 二氯喹啉酸为可湿性粉剂, 有效成分(w)50% (江苏富田农化有限公司); 苄嘧磺隆为可湿性粉剂, 有效成分(w)10% (上海杜邦农化有限公司); 2 甲 4 氯钠(MCPA-Na)为可湿性粉剂, 有效成分(w)56% (山东侨昌化学有限公司)。

FC-18 台式高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂); UVmini1240 型紫外-可见分光光度计(日本岛津株式会社); 1702-MP8 型电子天平(德国 Startorius 公司); 501 数显恒温超级水浴锅(江苏省金坛市宏华仪器厂)。

1.2 方法

试验设在广东省南雄市烟草科学研究所试验田, 共 12 个小区, 每小区 30 株烟, 每小区面积 18 m², 设 4 个处理: 空白对照、二氯喹啉酸处理、苄嘧磺隆处理、2 甲 4 氯钠处理, 每个处理设 3 个重复, 随机排列。选择 3 种除草剂中残留期最长的二氯喹啉酸作为标准, 根据陈泽鹏等^[13]的研究, 其 120 d 的降解率约为 80%, 从喷施除草剂到烟苗移栽约 3 个月, 由于烟民在喷施农药时多数存在过量甚至几倍于推荐剂量的情况, 故在烟苗移栽 30 d 后, 按照除草剂推荐剂量的 1/4 土壤喷施, 避免药剂与烟叶接触。

1.2.1 烟叶受害特征调查

每小区挑选长势一致的烟草 20 株, 标定中部与上部叶。施药后 30 d, 测定每小区 20 株烟的株高, 上部第 4 片叶的叶长及叶宽, 计算抑制率。

1.2.2 酶活性测定前处理 喷药处理后 30 d 开始, 每隔 7 d 取 1 次样, 共 5 次, 每次均取第 11 叶位的叶片, 取样时间控制在 08:30—09:00。将各处理的烟叶样品用自来水冲洗干净, 并用纱布擦干, 除去中脉, 将叶片剪碎后测定酶活。

1.2.3 淀粉酶活性测定(DNS 法) 参照陈勇等^[19]的方法并略有改进。称取 1.0 g 烟叶样品, 用预冷的蒸馏水在冰浴中研磨成匀浆并定容至 5 mL, 5 000 r·min⁻¹离心 10 min。取 2 支试管, 一支为测定管, 加 0.4 mL 上清液, 0.6 mL 蒸馏水, 1 mL 0.1 mol·L⁻¹ pH 5.6 的柠檬酸缓冲液, 另一支为对照管, 加 4 mL 0.4 mol·L⁻¹ 的氢氧化钠溶液, 1 mL 蒸馏水, 1 mL 0.1 mol·L⁻¹ pH 5.6 的柠檬酸缓冲液。将对照管和测定管置于 40 °C 水浴锅中保温 15 min, 各管均加预热的 10 g·L⁻¹ 的淀粉溶液 2 mL, 摇匀, 40 °C 保温 5 min, 取出, 测定管迅速加 4 mL 0.4 mol·L⁻¹ NaOH 溶液终止酶活性。取各管中溶液 2

mL到另一试管,并加2 mL 3,5-二硝基水杨酸,混匀后水浴煮沸5 min,取出冷却稀释至15 min混匀。用分光光度计在520 nm波长下比色,记录吸光值,从麦芽糖标准曲线中计算出麦芽糖含量,并计算淀粉酶活性,酶活性以单位时间内消耗麦芽糖量计算。

1.2.4 硝酸还原酶活性测定(活体法) 参照朱广廉等^[20]的方法并略有改进,取2支试管,每支称取0.5 g剪成0.5~1.0 cm的小块烟叶,向各试管加入KNO₃-异丙醇-磷酸缓冲液混合液9 mL,其中一管立即加入1.0 mL *w*为30%的三氯乙酸,混匀做对照管,然后将所有的试管置于30℃条件下于黑暗处保温30 min。分别向各处理管中加1.0 mL 30% (*w*)的三氯乙酸,摇匀终止酶活性,静置2 min。取上清液2 ml至另一试管,加4 mL 1% (*w*) 磺酸,4 mL 2% (*w*) β-萘胺显色5 min。用分光光度计在540 nm波长下比色,记录吸光值,从亚硝态氮标准曲线中计算出亚硝态氮含量,并计算硝酸还原酶活性。

1.2.5 蔗糖转化酶活性测定(比色法) 称取1.0 g样品,剪碎后用预冷的蒸馏水在冰浴中研成匀浆,定容至100 mL,在冰箱中浸提3 h后,4 000 r·min⁻¹离心15 min,上清液即为粗酶液。参照何钟佩^[21]的方法并略有改进,吸酶液2 mL,加入试管中(以煮沸10 min钝化的酶液作对照),加入5% (*w*) pH 5.4的磷酸缓冲液5 mL及10% (*w*) 蔗糖溶液1 mL,在37℃水浴中保温30 min,取出后立即吸取2 mL,加入1.5 mL 3,5-二硝基水杨酸试剂,沸水浴中煮沸5 min,冷却定容至15 mL。用分光光度计在540 nm波长下比色,记录吸光值,查标准曲线得酶反应液中还原糖的浓度,并计算蔗糖转化酶活性。

1.2.6 过氧化物酶活性测定(愈创木酚法) 称取

0.5 g样品,用预冷的蒸馏水在冰浴中研磨成匀浆并定容至5 mL,4 000 r·min⁻¹离心20 min,上清液即为粗酶液。采用愈创木酚法,参照沈文庵等^[22]方法,在50 mL的0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH 6.0)中加入愈创木酚30 μg,加热搅拌直至愈创木酚溶解,待溶液冷却后加入*w*为30%的过氧化氢溶液50 μL,混合均匀。取比色皿2支,一支加入上述溶液2.9 mL和0.05 mol·L⁻¹ pH 6.0磷酸缓冲液0.1 mL,作为空白调零。另一支加入上述溶液2.9 mL,粗酶液0.1 mL。用分光光度计在470 nm波长下测定吸光值,每隔30 s读数1次。计算过氧化物酶的活性。

1.3 数据分析

采用Microsoft Excel 2007和SPSS 17.0软件对数据进行处理,应用邓肯氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 除草剂对烟草生长的影响

烟草移栽后60 d,开始进入打顶期。不同处理对烟草打顶期后农艺性状的影响调查结果见表1,二氯喹啉酸处理过的烟叶叶宽明显受到抑制,抑制率可达58.56%,叶片狭长呈线性,叶面凹凸不平,叶片颜色加深,厚度加大,畸形症状明显,严重影响烟草的产量和质量,甚至造成绝收;苄嘧磺隆对株高和叶宽的抑制率也分别达到14.21%和13.74%,烟株出现矮化,茎部出现不规则褐斑,叶片颜色略有加深,整体长势比对照略差;2甲4氯钠严重抑制烟草生长,株高、叶长、叶宽抑制率分别达到了36.03%、32.57%和36.65%,叶片瘦小,烟草植株矮化明显,产量和品质大大下降。

表1 不同除草剂处理对烟草打顶期农艺性状的影响¹⁾

Tab.1 Effects of different herbicide treatments on agronomic characters of tobacco in tip pruning period

处理	株高/cm	株高抑制率%	叶长/cm	叶长抑制率%	叶宽/cm	叶宽抑制率%
CK	70.28 ± 2.66c		54.13 ± 4.67b		21.91 ± 3.47c	
二氯喹啉酸	67.05 ± 4.97bc	4.60	50.90 ± 3.06b	5.97	9.08 ± 1.54a	58.56
苄嘧磺隆	60.30 ± 3.56b	14.21	52.63 ± 3.00b	2.77	18.90 ± 1.42c	13.74
2甲4氯钠	44.96 ± 3.04a	36.03	36.50 ± 4.09a	32.57	13.88 ± 2.37b	36.65

1) 同列数据后凡是有有一个相同小写字母者表示差异不显著($P > 0.05$, Duncan's法)

2.2 烟草酶活性动态变化

不同除草剂处理对烟叶淀粉酶活性影响测定结果见图1A,正常烟叶在生长过程中,淀粉酶活性逐渐升高,并在移栽后81 d到达最大值。烟叶在成熟期内淀粉酶活性逐渐提高,表明烟叶由积累淀粉向分解淀粉转变。

不同除草剂对淀粉酶活性影响差异很大,总体

来讲在打顶期后活性均低于对照。二氯喹啉酸处理的烟叶淀粉酶活性在移栽后67 d达最大值,随后逐渐降低;苄嘧磺隆处理的烟叶在打顶期后淀粉酶活性先升高,后略有下降,再急剧上升,并在81 d达到最大值;2甲4氯钠处理过的烟叶淀粉酶活性变化趋势与对照基本一致。表明二氯喹啉酸处理过的烟叶淀粉转化受到抑制,苄嘧磺隆则主要影响了淀粉的

积累周期,2甲4氯钠只是对淀粉积累量略有影响。

不同除草剂对烟叶硝酸还原酶活性影响测定结果见图1B,正常烟株在打顶期后硝酸还原酶活性先升高后逐渐降低,并在74 d达最大值。前期活性逐渐升高表明烟株同化硝酸盐能力不断增强,而在临近成熟期后,营养物质积累减少,硝酸还原酶活性减弱。苄嘧磺隆和2甲4氯钠处理过的烟叶硝酸还原酶活性整体变化趋势与正常烟株一致,但在打顶初期低于正常值;二氯喹啉酸引起烟叶打顶期后硝酸还原酶活性一直缓慢升高。

不同除草剂对烟叶蔗糖转化酶活性影响测定结

果见图1C,不同处理烟株的蔗糖转化酶活性变化趋势基本一致,都是先逐渐升高,后降低,但二氯喹啉酸达最大酶活性的时间先于其他处理,并且在成熟期内蔗糖转化酶活性始终低于正常值,而另外2种除草剂对烟叶转化酶活性影响不明显。

不同处理对烟叶过氧化物酶活性影响测定结果如图1D所示,正常烟叶过氧化物酶活性在打顶期后先升高后降低,在81 d达到最大值,而3种除草剂处理过的酶活性则在60 d时有最大值,以后逐渐降低,表明过氧化物酶作为一种保护性酶,在烟株受到除草剂药害时,活性迅速提高,是烟草抵御药害的一种保护机制。

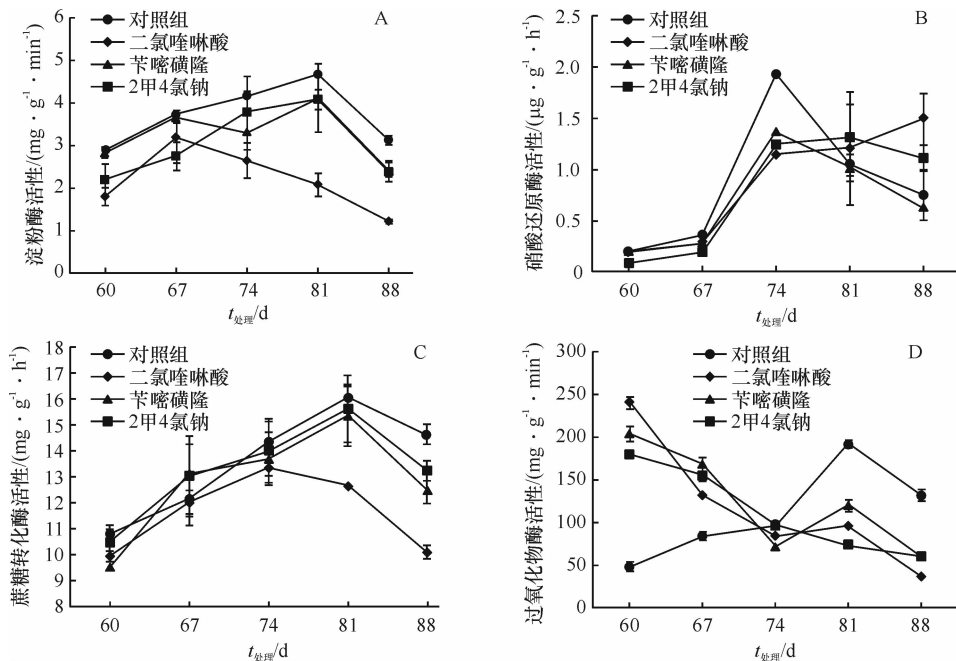


图1 不同除草剂残留对烟草酶活性的影响

Fig. 1 Effects of different herbicide residues on tobacco enzyme activities

3 讨论与结论

烟叶生长过程中碳氮代谢是最基本的生理代谢活动,只有碳水化合物与含氮化合物之间平衡协调,才能生产出优质烟叶^[23],而碳代谢主要包括无机碳的光合固定、碳水化合物的转化运输及碳水化合物的积累分解,这些过程主要是在淀粉酶和蔗糖转化酶作用下进行的;硝酸还原酶是烟草叶片氮代谢的关键酶,平衡体内的碳氮代谢,对烟草生育期内含氮物质的转化以及叶片内的糖类物质的转化有关键作用^[24];过氧化物酶、超氧化物歧化酶是保护酶系统中最重要的酶,它们的协同作用可以不断消除细胞中产生的活性氧^[25],使活性氧维持在一个较低水平上,减少细胞膜脂过氧化,缓解各种胁迫的影响。这4种酶任何一种活性受到破坏,都会对烟草正常生长产生影响,进而降低烟草的产量和品质。

本研究表明,在打顶期后,3种除草剂在1/4推荐剂量下均会对烟草产生药害,二氯喹啉酸对烟草叶宽有显著抑制,抑制率可达58.56%,导致叶片严重畸形至绝收,但对株高和叶长的抑制作用并不明显,对硝酸还原酶和过氧化物酶活性的动态变化影响较大;苄嘧磺隆对烟草株高和叶宽抑制作用明显,抑制率分别是14.21%和13.74%,主要影响淀粉酶和过氧化物酶活性,苄嘧磺隆也会对烟草产量产生一定影响;2甲4氯钠对株高、叶长和叶宽均有显著抑制作用,抑制率分别达到36.03%、32.57%和36.65%,对烟草产量有很大影响,但对其生化活性影响最小。由于农民的不合理用药,过量喷施或交叉用药导致这些药剂在稻烟轮作区残留量超过1/4推荐剂量,从而对烟草产生严重的药害,因此在稻烟轮作区应尽量避免二氯喹啉酸、苄嘧磺隆和2甲4氯钠的使用。

目前,应对除草剂残留药害的方法尚不成熟,还停留在加速降解的传统层面上。解决除草剂残留药害还应从以下几个方面入手:探索新的吸附或分解除草剂的安全剂,依靠安全剂调节作物中酶的活性,改善作物对除草剂的耐力。近几年,磺酰脲类除草剂安全剂的应用有所提高^[26],而二氯喹啉酸以及2甲4氯钠安全剂则鲜有报道;筛选微生物降解菌,微生物修复技术以其高效、安全、环保等特点,逐渐成为处理农药污染等的最佳方案,有研究表明,在含二氯喹啉酸的土壤中,加入博德特氏菌 *Bordetella* sp. HN36 能加速二氯喹啉酸降解,改善土壤质量,烟株细胞超微结构及烟叶品质明显得到修复^[27];抗除草剂烟草品种的培育,运用转基因技术或者杂交、化学诱变以及植物组织培养法等非转基因技术选育抗药害能力强的烟草品种。

参考文献:

- [1] 张勇,张志国,苑学霞. 几种冷季型草坪草苗期对二氯喹啉酸的耐药性试验[J]. 中国草地,2004,4(26):51-56.
- [2] NORSWOTHY J K, BANGARWA S K, SCOTT R C, et al. Use of propanil and quinclorac tank mixtures for broad-leaf weed control on rice (*Oryza sativa*) levees [J]. Crop Prot, 2010, 29(3): 255-259.
- [3] SUNOHARA Y, MATSUMOTO H, IKEDA H. Effect of temperature on quinclorac-induced ethylene production from corn leaves[J]. J Pestic Sci, 1999, 24(4): 375-380.
- [4] MOYER J R, ESAU R, BOSWALL A L. Effects of quinclorac on following rotational crops [J]. Weed Technol, 1999, 13(3): 548-553.
- [5] 王广元,关成宏,王险峰. 几种除草剂对后茬作物的影响[J]. 现代农业,1999(3):12.
- [6] BERGHAUS R B, WUERZER. The mode of action of the new experimental herbicide quinclorac (BAS 514H) [C]// Proceedings of the 11th Asian-Pacific Weed Society Conference, Asian-Pacific Weed Science Organization. Taipei: APWS,1987:81-87.
- [7] 水清. 稻田施用二氯喹啉酸别过量[N]. 江苏农业科技报,2006-07-19(4).
- [8] SABADIE J. Alcoholysis and chemical hydrolysis of bensulfuron-methyl[J]. Weed Res,1996,36(5):441-448.
- [9] LANGE LAND K A. Hydrilla tuber formation in response to single and sequential bensulfuron-methyl exposures at different times [J]. Hydrobiologia, 1996, 340 (1/2/3): 247-251.
- [10] 李玮. 56%2甲4氯钠水溶性粉剂除春小麦一年生阔叶杂草效果及对春小麦安全性试验[J]. 青海农林科技,2014(2):5-7.
- [11] 苏少泉. 激素类除草剂的发展与杂草抗性[J]. 农药研究与应用, 2011,15(6):1-4.
- [12] 曹阳,万忠,黄丽芸,等. 2012年广东省烟草产业发展形势与对策建议[J]. 广东农业科学,2013,40(15):4-6.
- [13] 陈泽鹏,王静,万树青,等. 广东部分地区烟叶畸形生长的原因及合理的研究[J]. 中国烟草学报,2004(3):38-41.
- [14] 宋稳成,余苹中. 二氯喹啉酸的生态毒理学研究进展[J]. 农药科学与管理,2006,25(9):13-17.
- [15] 张玉聚,张德胜,张俊涛,等. 磺酰脲类除草剂的药害与安全应用[J]. 农药,2003(6):42-44.
- [16] 娄国强,吕文彦,职明星. 苯磺隆、苄嘧磺隆对不同小麦品种安全性及叶绿素含量的影响[J]. 中国农学通报, 2005,10(21):317-320.
- [17] 高新菊,葛玉红,王恒亮,等. 缓解剂对2甲4氯钠玉米药害的解除作用[J]. 农药,2014,53(2):109-112.
- [18] 刘卫群,刘国顺,符云鹏,等. 不同肥料对烤烟叶片生理生化特性的影响. [J]. 河南农业大学学报,1998,3(32):234-237.
- [19] 陈勇,陶德欣,鲁黎明. DNS法测定烟草还原糖条件的优化[J]. 江苏农业科学,2011,39(5):393-395.
- [20] 朱广廉,钟海文. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社,1988:45-63.
- [21] 何钟佩. 农作物活血控制实验指导[M]. 北京:北京农业大学出版社,1992:54-68.
- [22] 沈文庵,叶茂炳,徐朗莱. 小麦旗叶衰老过程中清除活性氧能力的变化[J]. 植物,1997,39(7):634-640.
- [23] 史宏志,韩锦峰,赵鹏,等. 不同氮量和氮源下烤烟淀粉酶和转化酶活性动态变化[J]. 中国烟草科学,1999(3):5-8.
- [24] 常蓬勃,李志云,杨建堂,等. 氮钾锌配施对烟草超氧化物歧化酶和硝酸还原酶活性及根系活力的影响[J]. 中国农学通报,2008,24(1):266-270.
- [25] 邓建朝,万树青,陈泽鹏,等. 二氯喹啉酸诱导烟草过氧化物酶活性的动态分析[J]. 植物保护学报,2006,33(3):303-306.
- [26] 叶非,付颖,徐伟钧,等. 安全剂AD-67保护玉米免受单嘧磺隆药害的作用及其机理[J]. 植物保护,2010,36(4):90-93.
- [27] 刘华山,左涛,韩锦峰,等. 降解菌HN36对二氯喹啉酸胁迫下烟草茎尖和叶片超微结构的影响[J]. 植物生态学报,2012,36(2):262-268.

【责任编辑 霍欢】