

3 种农药对烤烟旺长期叶绿素含量及 相关酶活性的影响

刘鹏飞¹ 段宾宾¹ 赵铭钦¹ 李元实² 韩富根¹

(1. 河南农业大学 烟草学院/国家烟草栽培生理生化基地, 河南 郑州 450002; 2. 吉林烟草工业有限责任公司, 吉林 延吉 133001)

摘要: 为了研究大田中常用 3 种化学农药对烤烟旺长期生理活性的影响, 选用 3 种不同农药(氧化乐果乳油、乙酰甲胺磷乳油、吡虫啉可湿性粉剂), 测定其在烟苗旺长期对烤烟叶片的叶绿素含量和吲哚乙酸氧化酶(IAAO)、硝酸还原酶(NR)、转化酶(InV)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)等 5 种酶活性的影响。结果表明, 喷施 3 种农药均不同程度地降低了叶片中叶绿素含量、NR 和 InV 活性, 并随着烟草生育期的推进, 上述指标均有所提高; 而 IAAO、PAL 和 PPO 活性在施药后明显增加, 随着烟草生育期的推进回落明显。这 3 种农药对烟草叶片中不同的生理活性指标有着不同程度的影响。

关键词: 烤烟; 叶片; 叶绿素; 酶; 活性

中图分类号: S482.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)03-0173-04

Impact of Three Kinds of Pesticides on Period Chlorophyll Content and Related Enzyme Activities in Tobacco Rapid Growth

LIU Peng-fei¹, DUAN Bin-bin¹, ZHAO Ming-qin¹, LI Yuan-shi², HAN Fu-gen¹

(1. College of Tobacco Science Henan Agricultural University/ National Tobacco Cultivation & Physiology & Biochemistry Research Center Zhengzhou 450002, China; 2. Jilin Tobacco Industrial CO., LTD, Yanji, Jilin 133001, China)

Abstract: The purpose of this study was to research the impact of physiological activity with application of 3 kinds of pesticides. The impact of chemical pesticides on tobacco leaf's physiological activity including chlorophyll content, IAAO, NR, InV, PAL and PPO activities were researched with application of 3 kinds of chemical pesticides (omethoate EC, acephate EC, imidacloprid WP) were used in these experiment assays. The results showed that the content of chlorophyll, activities of NR and InV were reduced after spraying this three kinds of pesticides. With the promotion of tobacco plants growing period, these indicators rebounded significantly; On the contrary, the activities of IAAO, PAL and PPO were significantly increased after application. With the promotion of tobacco plants growing period, these indicators reduced significantly. These three kinds of pesticide on tobacco leaves with different physiological parameters have different impact.

Key words: Flue-cured tobacco; Leaf; Chlorophyll; Enzyme; Activity

烟草在种植和存放过程中容易遭受多种病虫害, 烟草病、虫害不仅直接危害烟草叶片和其生理活性^[1-4], 还传播烟草多种病毒病^[5-6]。为了减轻病、虫害对烟叶的影响, 大量的农药在烟草的种植过程中被施用。而农药对作物是一种外来胁迫, 会对作物产生多种负面影响, 高剂量使用后会对外造成药害, 轻者减产, 重者可使作物死亡, 常用剂量下表

面上对作物没有造成药害, 但对植株的毒害多数是一种潜在的、细微的效应^[7]。施药后对水稻等农作物生理生化指标的变化方面, 目前已有学者进行了相关研究^[8-13], 而喷施农药对烟草的影响大多集中在对控制害虫的效果和对天敌的影响^[14-17]方面, 但对烟株本身生理生化的影响未见报道。按照现代植物医学的观点, 在施用农药的过程中必须充分考虑

收稿日期: 2012-03-12

基金项目: 吉林烟草工业有限责任公司重大科技攻关项目(JY2006012)

作者简介: 刘鹏飞(1981-), 男, 河南安阳人, 讲师, 博士, 主要从事烟草化学与烟用香料方面的教学与科研工作。

通讯作者: 韩富根(1953-), 男, 河南鄢陵人, 教授, 主要从事烟草栽培与烟草化学方面的教学与科研工作。

农药对作物的影响程度,因此,初步探讨了3种农药对烟草生理的影响,以期引起研究者的关注。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验在河南农业大学科教园区进行。供试烤烟品种为中烟101。供试药剂为:40%氧化乐果乳油(重庆民丰农化股份有限公司);30%乙酰甲胺磷乳油(湖北沙隆达股份有限公司);10%吡虫啉可湿性粉剂(江苏省常州农药厂);土壤为普通潮土,质地轻砂壤,pH值7.74,耕层0~20 cm土壤含有机质12.1 g/kg,全氮0.81 g/kg,碱解氮63 mg/kg,速效磷(P_2O_5)16.8 mg/kg,速效钾(K_2O)125 mg/kg。施纯氮50 kg/hm²,氮磷钾比例(N: P_2O_5 : K_2O)为1:2:3。所需肥料分别为硝酸铵(含N 35%)、腐熟芝麻饼肥(含N 58.11 g/kg, P_2O_5 27.31 g/kg, K_2O 12.68 g/kg)、过磷酸钙(含 P_2O_5 12%)和硫酸钾(含 K_2O 50%),其中,50%氮素由腐熟芝麻饼肥提供。全部饼肥、磷肥、2/3无机氮肥和钾肥在烟田起垄时双开沟条施,剩余肥料在移栽时作窝肥穴施。烟苗采用漂浮育苗,于当年5月2日移栽,行距1.1 m,株距0.55 m,种植密度为 1.653×10^4 株/hm²,四周设置保护行,田间管理按当地优质烤烟生产栽培规范进行。

烟株团棵后(移栽后35 d)各处理喷施农药1次,喷施质量参照各药剂生产厂家的推荐使用量。喷施方法为:全株喷施,以叶面叶背湿露为度。团棵后喷施农药于施药后1、2、4、8、12、20 d,取烟株中部定位叶(主茎高度3/5处)测定其指标。每次每个处理选有代表性烟株5株,每处理按特定叶位取3片测量,取平均值。

1.2 试验设计

试验共设4个处理。分别为CK:喷施清水,750 kg/hm²;T1:喷施40%氧化乐果乳油,750 kg/hm²(含40%氧化乐果乳油750 mL);T2:喷施30%乙酰甲胺磷乳油,750 kg/hm²(含30%乙酰甲胺磷乳油1500 mL);T3:喷施10%吡虫啉可湿性粉剂,750 kg/hm²(含10%吡虫啉可湿性粉剂3150 g)。

1.3 测定项目与方法

叶绿素含量和转化酶(InV)采用赵会杰^[18]的方法,硝酸还原酶(NR)采用活体-分光光度计比色法测定^[19],吲哚乙酸氧化酶(IAAO)采用王文静测定^[20]的方法,苯丙氨酸解氨酶(PAL)采用分光光度法测定^[21],多酚氧化酶(PPO)采用剩余滴定法测定^[22]。

1.4 数据处理

数据采用SPSS 12软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对叶片叶绿素含量的影响

从图1可以看出,团棵期后随着生育期的延长,叶片中叶绿素含量呈升高趋势,这是烟株的正常生长状况。与CK相比,施药后各处理叶片中叶绿素含量均有不同程度地降低,并呈现“先降低后升高”的基本趋势,并且T1、T2和T3均在施药后8 d降低幅度最大(与每个时间点的CK相比),以T1处理叶绿素含量降低幅度最大,达到63.7%;T3处理降低幅度次之,达到42.1%;T2降低幅度最小,为35.4%。随后各处理叶绿素含量均有所升高。施药20 d后,各处理与CK相比,T1处理叶绿素含量降低幅度为12.8%,T2降低幅度为6.2%,T3降低幅度为21.9%,叶绿素含量回升效果明显。

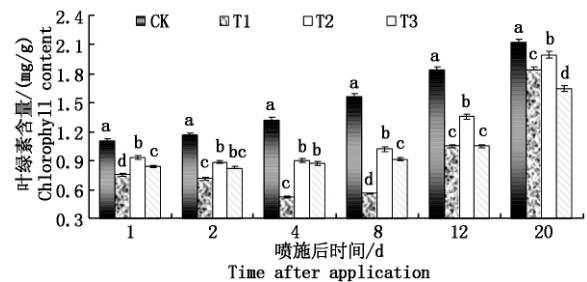


图1 喷施农药对烤烟烟叶叶绿素含量的影响

Fig.1 Impact of pesticides on tobacco leaf chlorophyll content

2.2 不同处理对叶片吲哚乙酸氧化酶(IAAO)活性的影响

由图2可知,喷施农药后,烤烟烟叶内IAAO酶活性变化在整个测定阶段表现为施药后前期与CK相比先升后降,直到施药后20 d时与CK差别不大。与CK相比,T1处理的IAAO酶活性在喷施后前8 d均高于CK,在4 d时达到最大,高于CK(21.6%),12 d后无显著差异;T2和T3处理的IAAO酶活性在喷施后前4 d均显著高于CK,在4 d时均达到最大,较CK分别高12.2%和12.4%,8 d后无显著差异,并且在整个检测时间段内T2和T3处理之间IAAO酶活性无显著差异。

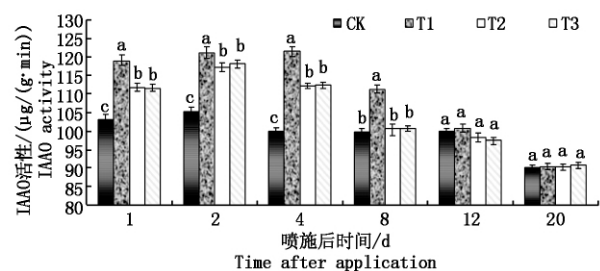


图2 喷施农药对烤烟烟叶吲哚乙酸氧化酶活性的影响

Fig.2 Impact of pesticides on tobacco leaf IAAO activity

2.3 不同处理对叶片硝酸还原酶 (NR) 活性的影响

由图 3 可知,团棵期后烤烟烟叶 NR 活性随生长长期的推进呈逐渐升高趋势,NR 的逐渐升高为烟株生长提供了更多的营养物质,为烟株生长提供良好条件。与 CK 对比,T1 和 T3 处理烟株的 NR 活性在施药后第 4 d 降幅最大,分别达到 53.2% 和 48.1%;而 T2 处理在施药后 8 d 降幅最大,为 58.3%;随后均有所升高,但在整个测定阶段均显著低于 CK。总体来看,烟株 NR 活性在施药后呈“先降低后升高”的趋势。

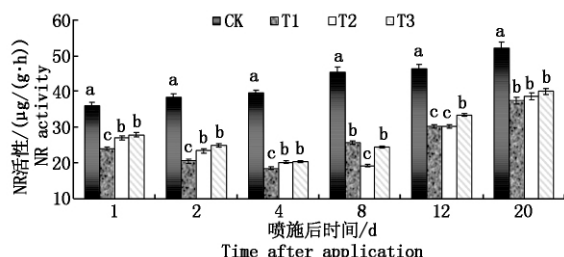


图 3 喷施农药对烤烟烟叶硝酸还原酶活性的影响

Fig. 3 Impact of pesticides on tobacco leaf NR activity

2.4 不同处理对叶片转化酶 (InV) 活性变化的影响

由图 4 可知,CK 处理的烟株随着生长发育的推进,烟叶的 InV 活性呈现逐渐稳步增加的趋势,喷施农药后烤烟烟叶 InV 活性则呈现“先降低后升高”的总体趋势。所有处理烟叶内 InV 活性在喷施农药后 4 d 降幅最大,与 CK 相比,T1,T2 和 T3 降幅分别为 59.5%、56.4% 和 51.1%;施药后 20 d 各处理烟叶 InV 活性均有所升高,但仍未达到 CK 水平,说明农药对烟叶 InV 活性影响时间较长。从整个监测期内总体来看,T1 处理的 InV 活性总体均低于其他处理,至监测期末段(20 d),相比 CK 降幅仍达到 34.4%,并显著低于其他几个处理。

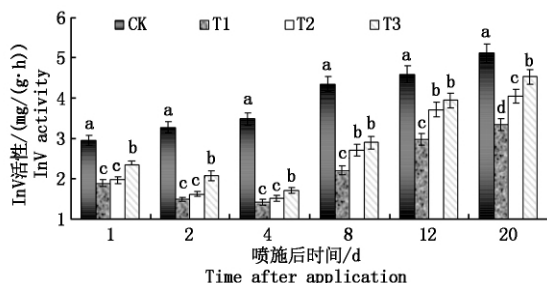


图 4 喷施农药对烤烟烟叶转化酶活性的影响

Fig. 4 Impact of pesticides on tobacco leaf InV activity

2.5 不同处理对烟叶苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 的影响

喷施农药后烤烟叶片内 PAL 活性测定结果见图 5。在整个监测期内,CK 的 InV 活性均保持平稳

状态,喷施农药后烤烟烟叶内 PAL 活性呈现出“先升高后降低”的总体趋势。与 CK 相比,喷施农药可显著刺激烟叶提高 PAL 活性;T1,T2 和 T3 对 InV 活性的影响均在施药后 4 d 增幅达到最大,分别为 146.0%、102.1% 和 92.2%;随后各处理 InV 活性增幅均呈现回落态势;到检测期末段(20 d),T1,T2 和 T3 对 InV 活性的增幅分别为 7.8%、34.4% 和 18.6%。

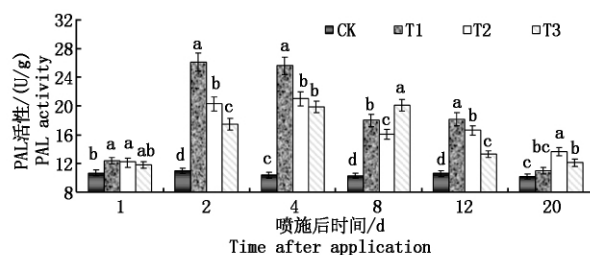


图 5 喷施农药对烤烟烟叶苯丙氨酸解氨酶活性的影响

Fig. 5 Impact of pesticides on tobacco leaf PAL activity

2.6 不同处理对叶片多酚氧化酶 (PPO) 活性变化的影响

由图 6 可知,各处理 PPO 活性在施药后 1~4 d 均显著高于 CK;与 CK 相比,T1 和 T2 的 PPO 活性增幅在施药后 1 d 达到最大,分别为 43.7% 和 34.9%;T3 则在施药后 4 d 增幅达到最大,为 27.3%;施药后 8 d,各处理与 CK 的 PPO 活性相比增幅明显减小,到 20 d 时与 CK 相比无显著差异。

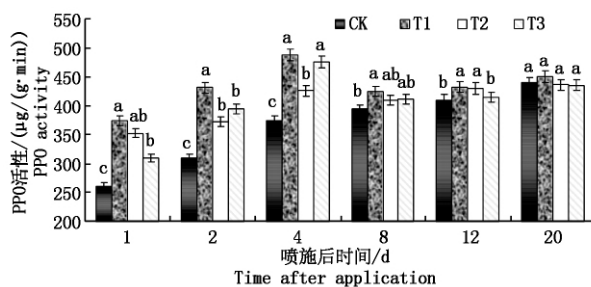


图 6 喷施农药对烤烟烟叶多酚氧化酶活性的影响

Fig. 6 Impact of pesticides on tobacco leaf PPO activity

3 结论与讨论

本研究结果表明,农药胁迫下 1~8 d 烟叶叶片中叶绿素含量均有不同程度地降低,其中 T1,T2 和 T3 均在喷施后 8 d 降幅达到最大值,并且 T1 降幅显著大于 T2 和 T3,随后处理叶绿素含量均有所升高。由此推测,叶绿素含量降低可能存在以下原因,叶绿体膜在农药胁迫条件下,膜的氧化胁迫可对叶绿素的形成过程产生抑制作用,合成叶绿素所需的酸受到破坏。Alberte 等^[23]研究认为,叶绿体的脂质过氧化可能与光合系统 II 的失活有关;叶绿素的含量降低的第 2 个原因可能是,农药为外来胁迫物,减

小了烟株的气孔开度,抑制了电子传递链和一些参与光合作用的酶,如 Rubisco 酶、GAP 脱氢酶等一些关键酶的活性,因而导致了叶绿素的生成量。这方面还需要深入研究。

不同农药对 IAAO 活性的影响与 CK 相比,各施药处理前期酶活性有所升高,并均在喷施后 4 d 增幅最大,其中 T1 处理影响最为显著;喷施 8 d 后各处理 IAAO 活性的增幅均有所降低,但仍高于 CK。直到喷施 12~20 d 后与 CK 相比无显著差异。由于施药降低了叶绿素的含量,因而导致了植物体的应激反应,与正常条件相比,IAAO 活性明显增强,陈立松等^[24]研究也发现,水分胁迫会导致荔枝叶片中 IAAO 活性增强,施药后 12 d 时与 CK 相比已无显著差异。

不同农药对 NR 和 InV 酶活性的影响与 CK 相比,施药后,前期烤烟烟叶中 NR 酶活性呈急剧下降的趋势。随着施药后时间的延长,酶活性有所升高,施药处理在整个测定阶段均显著低于 CK。这可能与农药处理后前期通过抑制烟草 NR 活性而影响到烟株对氮素的吸收与利用,从而影响到烟草植株的生长。说明农药作为一种环境胁迫影响烟叶正常的氮代谢水平,从而影响烟叶的正常发育。InV 与叶片的碳代谢密切相关。试验结果显示,施药后烤烟烟叶 InV 和 NR 具有相似的变化趋势。总体来看,3 种农药中氧化乐果对叶片的 NR 和 InV 活性的影响最大,乙酰甲胺磷影响次之,吡虫啉影响最小。农药对 NR 和 InV 的抑制作用是直接的还是间接的,还有待于进一步研究。

试验结果还表明,喷施农药 PAL 活性呈“先升高后降低”的趋势,施药后 20 d,农药对叶片 PAL 的影响依旧存在;3 种农药中氧化乐果对 PAL 的影响最大,其次是乙酰甲胺磷,最后是吡虫啉。由此可知,喷施农药对植物系统造成一定的胁迫,植物通过增加 PAL 活性从而产生更多防御物质从而减少外界对植物体的影响。周桂等^[25]研究也发现,干旱胁迫下甘蔗叶片会增加 PAL 活性。

不同农药对烟叶 PPO 活性在药后 4 d 内影响显著,且均显著高于 CK;4 d 后与 CK 相比总体接近,而这与施用的 3 种农药对烟叶 PPO 活性影响的持续时间明显少于 IAAO、NR、InV 和 PAL 方面表现出明显差异。

总体来看,烟株对 3 种农药的敏感程度依次为氧化乐果、乙酰甲胺磷和吡虫啉。农药胁迫对烟株的影响是一个非常复杂的过程,但关于农药对作物的伤害机理目前报道较少。因而推测,农药对烟株

的伤害机理可能来源于 2 个方面,一方面是农药本身对烟株生长代谢产生负面影响;另一方面农药的施用使得烟株产生相应的应激反应,增强了相关酶活性,从而降低了农药胁迫对烟株造成的不良影响。

参考文献:

- [1] 商胜华. 烟蚜为害烟草的损失估计及防治指标的研究 [M]//中国烟草昆虫研究. 北京: 中国农业出版社, 1996: 146-151.
- [2] 孔凡玉. 烟草苗期病虫害的综合防治 [J]. 烟草科技, 2002(2): 46-48.
- [3] 宫亚军, 石宝才, 路红, 等. 温度对 3 种蚜虫生长发育及繁殖的影响 [J]. 华北农学报, 2006, 21(5): 100-102.
- [4] 陈占洲, 周涛. 烟草花叶病毒影响烟草细胞活力的初步研究 [J]. 河南农业科学, 2008(3): 62-64.
- [5] 陈其瑚, 俞水炎. 蚜虫及其防治 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1988: 210-217.
- [6] 李淑君, 王海涛, 黄元炯, 等. 2000 年烟草病毒病大发生概况与原因分析 [J]. 烟草科技, 2001(1): 44-46.
- [7] 刘井兰, 于建飞, 印建莉, 等. 化学农药对植物生理生化影响的研究进展 [J]. 农药, 2006, 45(8): 511-514.
- [8] 姚英娟, 薛东, 杨长举. 植物源农药与杀虫磷混配剂对玉米象防治效果的研究 [J]. 华中农业大学学报, 2004, 34(10): 123-125.
- [9] 沈燕, 封超年, 李邵, 等. 农药对干旱胁迫下小麦幼苗生理生化特性的影响 [J]. 江苏农业科学, 2007(3): 16-19.
- [10] 吴进才, 许俊峰, 冯续猛, 等. 稻田常用农药对水稻 3 个品种生理生化的影响 [J]. 中国农业科学, 2003, 36(5): 536-541.
- [11] Youngman R R, Leigh T F, Kerby T A, et al. Pesticides and cotton: effect on photosynthesis, growth, and fruiting [J]. Journal of Economic Entomology, 1990, 83(4): 1549-1557.
- [12] 刘华山, 李晶新, 韩锦峰, 等. 二氯喹啉酸胁迫下 SNP 对烟苗活性氧及保护酶系统的修复效应 [J]. 华北农学报, 2010, 25(2): 156-159.
- [13] 武彦霞, 李红霞, 张小凤, 等. 三唑酮诱导对烟草几种防御酶活性的影响 [J]. 华北农学报, 2008, 23(3): 112-115.
- [14] 吴兴富, 邓建华, 王德俊, 等. 农药连用对烟蚜抗药性发展的影响 [J]. 中国烟草学报, 2004, 10(5): 38-42.
- [15] 李应金, 陈惠明, 胡坚. 五种杀虫剂对烟蚜的药效试验 [J]. 烟草科技, 2001(2): 46-48.
- [16] 王海涛, 李淑君, 陈玉国, 等. 30% 乙酰甲胺磷乳油防治烟青虫药效试验 [J]. 河南农业科学, 2003(5): 41-42.
- [17] 高念昭, 李恒源, 彭长雄, 等. 杀虫剂对烟地节支动物群落的影响 [J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2003, 25(5): 421-424.
- [18] 赵会杰, 刘华山, 董新纯. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 10.
- [19] 吴春霞, 曹福磊, 丁云杰, 等. 供锌水平对甘草生长和药用成分含量的影响 [J]. 华北农学报, 2011, 26(3): 168-172.
- [20] 王文静, 刘福建. 不同基因型小麦品种灌浆期籽粒活性的差异 [J]. 华北农学报, 2010, 25(2): 160-163.
- [21] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 194-195.
- [22] 韩雅珊. 食品化学实验指导 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992: 28-30.
- [23] Alberte R S, Thornber J P. Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize [J]. Plant Physiology, 1977, 59: 351-353.
- [24] 陈立松, 刘星辉. 水分胁迫下荔枝叶片过氧化物酶和 IAA 氧化酶活性的变化 [J]. 武汉植物学研究, 2002, 20(2): 131-136.
- [25] 周桂, 李杨瑞, 杨丽涛, 等. 干旱胁迫下甘蔗叶类黄酮及相关酶活性的变化 [J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(6): 185-189.