

树干注药对马尾松针叶几种生理指标和保护酶活性的影响

杨鼎超, 郝菲菲, 张 扬, 张林平, 栾丰刚, 曾菊平

(江西农业大学 林学院, 江西 南昌 330045)

摘要: 2015年3月25日,以马尾松 *Pinus massoniana* 为材料研究氯氟氰虫酰胺和甲维盐树干注药后其针叶内几种生理指标和保护酶活性的变化。结果表明:2种药剂树干注药后均可导致马尾松针叶内叶绿素和可溶性总糖含量下降,而丙二醛(MDA)含量上升,其中氯氟氰虫酰胺的影响较为显著,叶绿素a在注药后4d下降了10.3%,可溶性总糖在注药后8d下降了15%,MDA在注药后4d时均上升了42%。2种药剂树干注药后针叶内超氧化物歧化酶(SOD)活性均呈上升-下降-上升-下降的过程,氯氟氰虫酰胺对SOD活性影响较显著,注药后4d活性上升了39.5%;而苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性均呈上升-下降的过程,氯氟氰虫酰胺对PAL活性影响较显著,注药后8d活性上升了40.7%。

关键词: 树干注药;马尾松;杀虫剂;生理指标;保护酶

中图分类号: S763.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3776(2018)01-0027-06

Effect of Trunk Injection of Pesticides on Physiological Properties and Protective Enzymes in Leaves of *Pinus massoniana*

YANG Ding-chao, HAO Fei-fei, ZHANG Yang, ZHANG Lin-ping, LUAN Feng-gang, ZENG Ju-ping

(Department of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: Injection of Cyhalodiamide and Emamectin benzoate in *Pinus massoniana* trunk on March 25th of 2015 in Jiangxi province for determination of physiological properties and protective enzymes in leaves of tested trees. The result showed that content of chlorophyll and total soluble sugar of injected trees decreased, but that of MDA increased. Trees injected by Cyhalodiamide had decrease of chlorophyll content by 10.3% in the 4th day, of total soluble sugar content by 15% in the 8th day, while of MDA content increase by 42% in the 4th day. The activity of SOD in trees injected the two pesticides had a curve of up-down-up-down. Cyhalodiamide had significant effect on SOD and PAL activities, the activity of SOD increased 39.5% in the 4th day, and that of PAL 40.7% in the 8th day after trunk injection.

Key words: trunk injection; *Pinus massoniana*; pesticide; physiological property; protective enzyme

树干注药技术是将药剂直接注入树干内^[1],药剂在树体内具有较长的残留期,相对于喷雾法和烟雾法,其对林木蛀干、枝梢等害虫有良好的防治效果,且不易污染环境、杀伤天敌等,因此,树干注药技术在林木害虫防治中得到极大应用^[2-4]。唐光辉等研究表明有内吸性的药剂在树体内的活性不如无内吸作用的药剂^[5]。这表明注药剂不等同于内吸性药剂,药剂的防效取决于助剂类型。然而,药剂在树体内与植物密切接触,会对植物产

收稿日期: 2017-06-31 ; 修回日期: 2017-12-01

基金项目: 江西省重大科技专项(20143ACF60005); 江西省林业厅创新专项项目(201411)

作者简介: 杨鼎超, 硕士在读, 从事森林病理学研究; E-mail: 973788942@qq.com。通信作者: 张林平, 副教授, 从事森林病理学研究; E-mail: zlping619@163.com。

生直接的影响^[6]，故对树干注药开展安全性研究具有重要意义。

氯氟氰虫酰胺是浙江省化工研究院有限公司自主开发的一类高效、作用机制独特的邻苯二甲酰胺类新型杀虫剂^[7]，与传统的杀虫剂无交互抗性，对哺乳动物较为安全，已广泛用于鳞翅目害虫的防治^[8-11]。目前，国内外有关氯氟氰虫酰胺在林木中输导及其安全性评价的研究尚未见报道，而氯氟氰虫酰胺在林间对松材线虫病 *Bursaphelenchus xylophilus* 表现出良好的防效^[12]。为此，采用树干注药技术将氯氟氰虫酰胺液体制剂注入马尾松 *Pinus massoniana* 树干内，分析其对马尾松针叶叶绿素含量、可溶性糖含量、丙二醛、苯丙氨酸解氨酶和超氧化物歧化酶的影响，探索其对马尾松生理代谢的作用机制，为树干注药技术对马尾松的安全性评价和松材线虫病防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

4.8%氯氟氰虫酰胺乳油，4.5%甲维盐乳油由江西大农化工有限公司提供，分别装至 50 mL 容量注射瓶内。丙酮、丙二醛试剂盒、超氧歧化酶试剂盒、苯丙氨酸解氨酶试剂盒、蒽酮、乙酸乙酯等药剂和试剂盒购自上海生工生物工程股份有限公司。

供试树木马尾松，于江西农业大学南昌商学院校园内选择树龄 8 a，树高 5 ~ 6 m，胸径 8 cm 左右，生长良好的马尾松 45 棵。

1.2 树干注药及采样

于 2015 年 3 月 25 日采用注干施药技术，用便携式电钻倾斜 45° 在马尾松树干距地面 1.3 m 处打 1 个 4 ~ 5 cm 深的孔，每棵树分别注入 4.8%氯氟氰虫酰胺乳油或 4.5%甲维盐乳油 1 瓶（50 mL），每个处理重复 3 次（每个重复 5 株，即 2 种药剂各注 15 棵），以不注药的等量马尾松为对照（CK）。在注药后的 1 d，4 d，8 d，12 d，16 d 分别在处理树冠中部的东、西、南、北四个方向进行针叶取样，每个方向每次取样量不少于 30 g，将针叶用自来水冲洗干净擦干后，密封于真空封口袋中，置于 - 20℃ 冰箱中保存备用。

1.3 生理指标测定

将待测的马尾松针叶于 105℃ 下杀青，80℃ 下烘干，称重后研磨粉碎。叶绿素含量的测定采用丙酮法进行，具体方法参考张宪政^[13]，并略有改动。可溶性糖含量的测定采用蒽酮比色法进行，具体方法参考李合生等^[14]，并略有改动；丙二醛（MDA）含量采用硫代巴比妥酸（TBA）法测定^[15]。

1.4 保护酶活性测定

酶粗提液的制备具体方法参照唐光辉等^[16]，并稍作改动。苯丙氨酸解氨酶（PAL）通过测定 D_{290} 值，以 D_{290} 变化 0.01 为 1 个酶活力单位^[17]；超氧化物歧化酶（SOD）采用黄氮蓝四唑法（NBT）测定^[14]，每分钟内抑制光氧化还原 NBT 50% 为 1 个酶活性单位（U），酶活性为每克鲜样的 U 数（ $U \cdot g^{-1}$ ）。

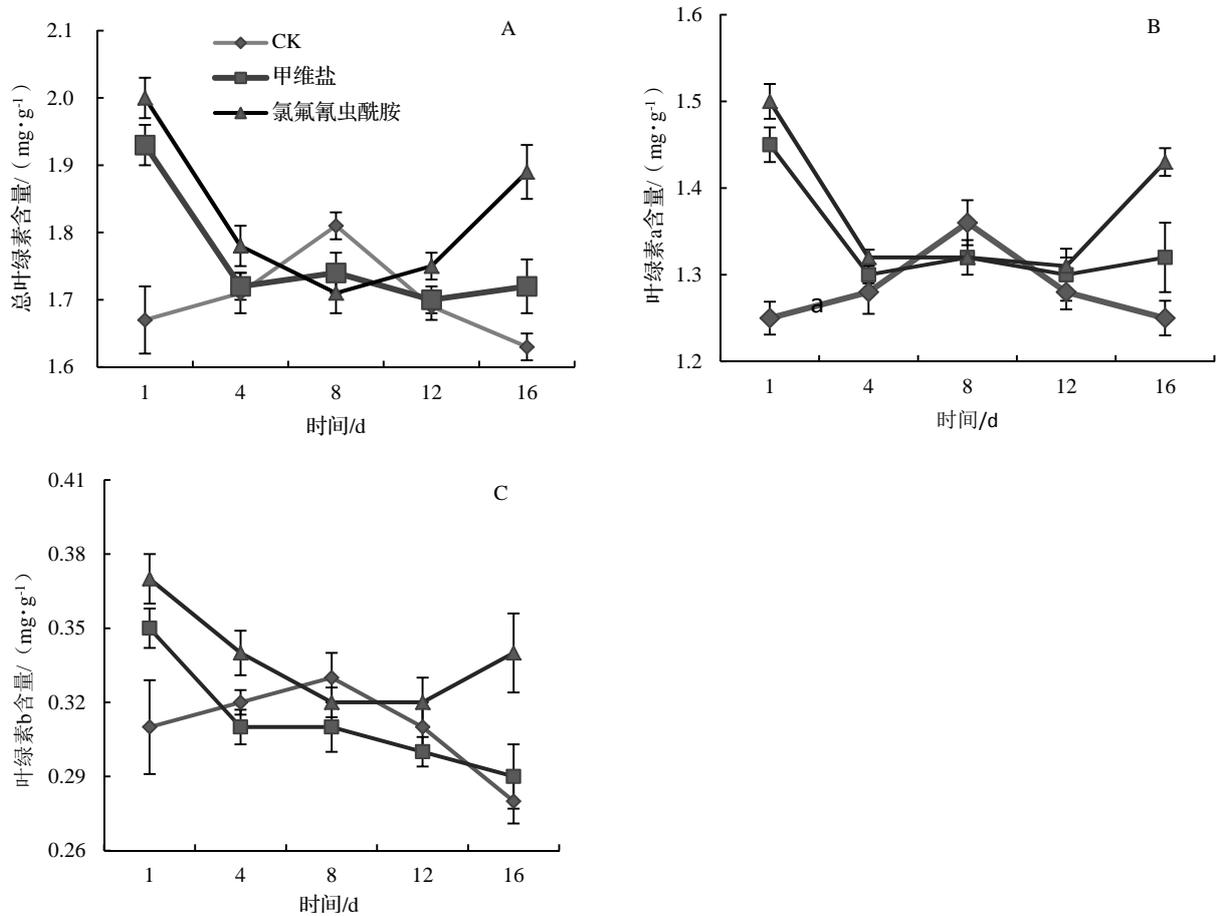
1.5 数据分析

试验数据分析采用 SPSS 16.0 软件，Duncan 法进行差异显著性分析，作图采用 Excel 软件。

2 结果与分析

2.1 树干注药对马尾松针叶叶绿素的影响

由图 1 可知，处理 4 d 时 2 种药剂均可导致总叶绿素，叶绿素 a，b 含量下降，其中氯氟氰虫酰胺处理叶绿素 a 含量降低最多（10.3%），但处理 8 d 后 2 种药剂又可引起总叶绿素，叶绿素 a，b 含量呈不同程度升高，仍以氯氟氰虫酰胺的刺激作用较为显著，16 d 时叶绿素 a 含量较对照提高了 10.5%。因此，树干注药对马尾松针叶内总叶绿素含量没有显著影响，但对叶绿素 a 含量有显著影响（表 1）。



A - 总叶绿素; B - 叶绿素 a; C - 叶绿素 b。

图 1 树干注药对马尾松针叶叶绿素含量的影响

Figure 1 Trunk injection of 2 pesticides on the chlorophyll content in leaves of *P. massoniana*

表 1 树干注药后马尾松针叶叶绿素方差分析

Table 1 ANOVA on chlorophyll content in leaves of *P. massoniana* after trunk injection

叶绿素	处理时间/d	CK	甲维盐	氯氟氰虫酰胺
叶绿素 a	1	1.25±0.02a	1.45±0.02b	1.53±0.02b
	4	1.28±0.01a	1.31±0.01a	1.32±0.03a
	8	1.36±0.01a	1.32±0.02a	1.32±0.03a
	12	1.28±0.01a	1.30±0.03a	1.31±0.02a
	16	1.25±0.02a	1.32±0.04a	1.43±0.02a
叶绿素 b	1	0.31±0.01a	0.35±0.01a	0.37±0.02a
	4	0.32±0.01a	0.31±0.01a	0.34±0.01a
	8	0.33±0.01a	0.31±0.01a	0.32±0.01a
	12	0.31±0.01a	0.32±0.01a	0.32±0.01a
	16	0.28±0.02a	0.29±0.01a	0.34±0.01a
总叶绿素	1	1.67±0.03a	1.93±0.03b	2.03±0.05b
	4	1.71±0.03a	1.72±0.02a	1.78±0.03a
	8	1.81±0.03a	1.74±0.03a	1.71±0.02a
	12	1.69±0.02a	1.71±0.02a	1.75±0.02a
	16	1.63±0.04a	1.72±0.04a	1.89±0.02a

注: 同列数据后不同字母表示处理间 $P < 0.05$ 水平差异显著性。下同。

2.2 树干注药对可溶性总糖含量的影响

由图 2 可知, 2 种药剂处理对马尾松针叶中可溶性总糖含量有不同程度的影响。氯氟氰虫酰胺处理 8 d 时可溶性总糖含量最低, 比对照降低 15%, 12 d 达到最高; 甲维盐注药 4 d 时可溶性总糖含量最高, 12 d 时可溶性总糖含量最低, 比对照降低 35%。由方差分析可知, 不同药剂树干注射对马尾松针叶内总可溶性糖含量没有显著影响(表 2)。

表 2 树干注药后马尾松针叶可溶性糖方差分析
Table 2 ANOVA on soluble sugar content in leaves of *P. massoniana* after trunk injection

处理时间/d	CK	甲维盐	氯氟氰虫酰胺
1	10.14±0.47a	11.24±0.39a	10.84±0.36a
4	11.14±0.53a	11.64±0.47a	9.82±0.33a
8	8.64±0.46a	9.94±0.38a	7.31±0.27a
12	12.12±0.61b	7.88±0.48a	12.26±0.26b
16	8.63±0.26a	8.14±0.34a	7.86±0.46a

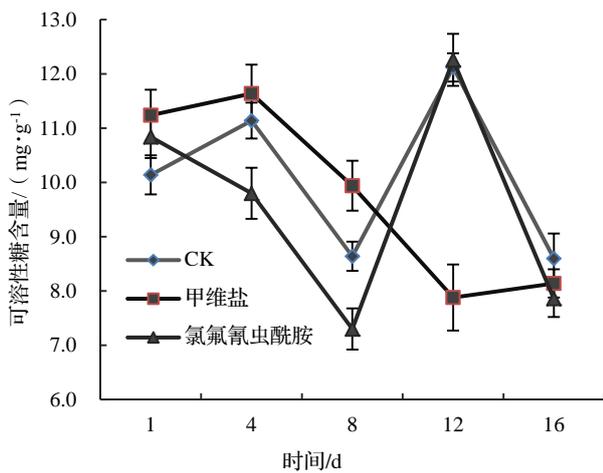


图 2 树干注药对针叶中可溶性总糖含量的影响

Figure 2 Effect trunk injection of pesticides on total soluble sugar content of in leaves of *P. massoniana*

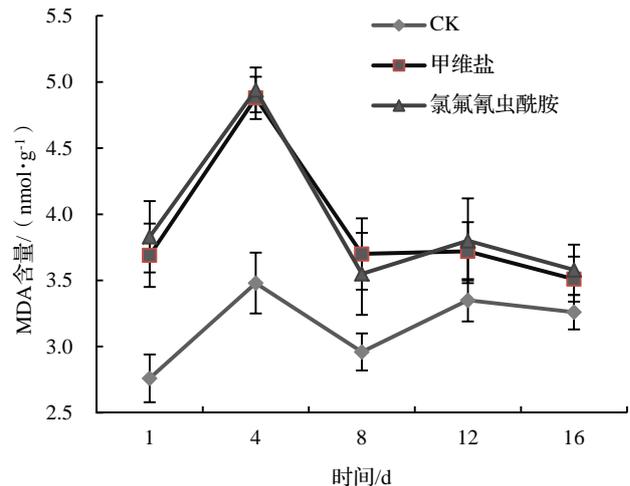


图 3 树干注药后马尾松针叶内 MDA 含量的变化

Figure 3 Effect trunk injection of pesticides on MDA content in leaves of *P. massoniana*

2.3 树干注药对马尾松针叶中 MDA 含量的影响

由图 3 可知, 树干注药后 MDA 含量经历上升-下降的变化。2 种药剂处理 4 d 时, MDA 含量均达到最高, 与对照相比均上升了 42%; 药后 16 d 时各药剂处理组的 MDA 含量均已接近对照水平。由表 3 可知, 不同药剂树干注射对马尾松针叶内 MDA 含量有显著影响。

表 3 树干注药后马尾松针叶丙二醛方差分析
Table 3 Variance analysis of MDA content of *P. massoniana* by trunk injection

处理时间/d	CK	甲维盐	氯氟氰虫酰胺
1	2.76±0.27a	3.69±0.24b	3.83±0.18b
4	3.48±0.17a	4.88±0.16b	4.94±0.23b
8	2.96±0.31a	3.71±0.27b	3.55±0.14b
12	3.35±0.32a	3.72±0.22b	3.82±0.16b
16	3.26±0.19a	3.51±0.17b	3.58±0.13b

2.4 树干注药对马尾松针叶内 SOD 活性的影响

由表 4 可知, 不同药剂树干注射对马尾松针叶内 SOD 酶活性有显著影响。由图 4 可知, 树干注药后 SOD 活性呈上升-下降-上升-下降的波动变化。氯氟氰虫酰胺处理对 SOD 活性影响较显著, 注药后 4 d 酶活性达到最高, 与对照相比上升了 39.5%; 而甲维盐处理 4 d 后酶活性也达到最高, 与对照相比上升了 31.7%, 而处理 8 d 时酶活性达到最低。药后 16 d 2 种药剂处理 SOD 活性均逐渐接近对照水平。

表 4 树干注药后马尾松针叶 SOD 酶活性方差分析
Table 4 ANOVA on SOD activity in leaves of *P. massoniana* after trunk injection

处理时间/d	CK	甲维盐	氯氟氰虫酰胺
1	15.87±1.28a	20.89±1.33c	17.52±0.57b
4	19.14±1.35a	25.21±1.25b	26.69±1.32b
8	19.38±1.47a	18.04±1.35a	22.02±1.26b
12	16.23±1.53a	23.02±1.28b	23.89±1.04b
16	17.24±1.31a	18.33±1.34b	16.81±0.93a

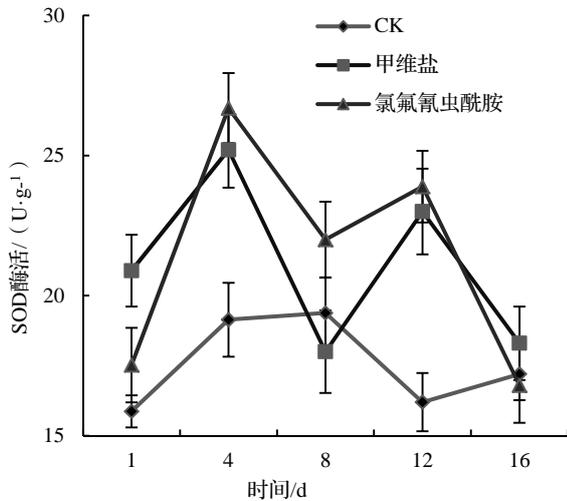


图 4 树干注药后马尾松针叶内 SOD 酶活性的变化

Figure 4 Effect of trunk injection of pesticides on SOD activity in leaves of *P. massoniana*

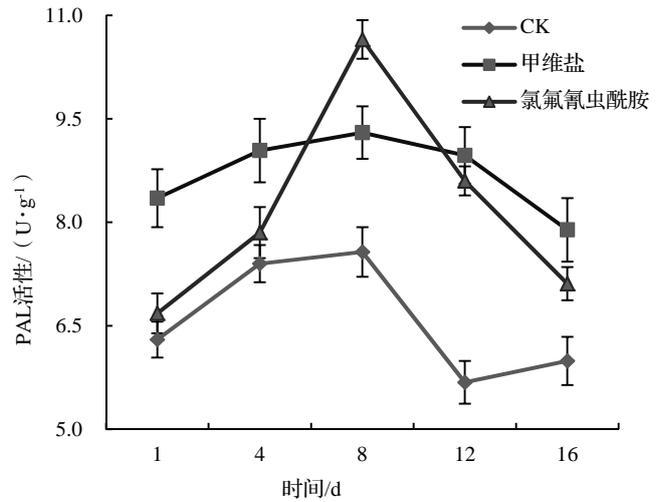


图 5 树干注药后马尾松针叶内 PAL 酶活性的变化

Figure 5 Effect of trunk injection of pesticides on PAL activity in leaves of *P. massoniana*

2.5 树干注药对马尾松针叶中苯丙氨酸解氨酶 PAL 活性的影响

树干注药后 PAL 活性经历上升-下降的变化, 且氯氟氰虫酰胺对 PAL 酶活性影响显著 (图 5, 表 5)。2 种药剂处理 8 d 后酶活性达到最高, 其中氯氟氰虫酰胺处理与对照相比, 酶活性上升了 40.7%, 之后迅速下降; 而甲维盐处理后 8 d, 与对照相比酶活性上升了 22.8%, 随后缓慢下降。

表 5 树干注药后马尾松针叶 PAL 酶活性方差分析
Table 5 ANOVA on PAL activity in leaves of *P. massoniana* after trunk injection

处理时间/d	CK	甲维盐	氯氟氰虫酰胺
1	6.33±0.42a	8.35±0.29b	6.68±0.26a
4	7.42±0.46a	9.04±0.37b	7.85±0.27a
8	7.57±0.38a	9.31±0.28b	10.65±0.36b
12	5.68±0.41a	8.97±0.21b	8.62±0.31b
16	5.99±0.46a	7.89±0.24b	7.11±0.35b

3 结论与讨论

2 种注干药剂经树干注射后对马尾松针叶内叶绿素、可溶性总糖、MDA 含量和 SOD、PAL 酶活性均可产生一定的影响, 进而可能会对马尾松的正常生理代谢产生一定的影响。2 种注干药剂对叶绿素、可溶性总糖含量的影响主要表现为先抑制后增高, 而对 MDA 含量的影响主要表现为先增高后降低。药剂处理后 SOD、PAL 活性均呈现出先上升、后抑制的波动变化, 其中药剂氯氟氰虫酰胺对 SOD、PAL 活性影响较为明显。

农药使用后对非靶标植物生长^[18]和生理代谢的影响日益受到研究人员的关注, 垂柳 *Salix babylonica* Linn. 树干注药后, 导致其叶片叶绿素和可溶性蛋白含量下降, 垂柳的正常生理代谢受到抑制^[19]; 桃 *Amygdalus persica* L. 采用树干注药和叶面喷雾 2 种施药方法, 结果叶面喷雾造成叶绿素含量下降、净光合速率降低, 而树干注药则增加叶绿素含量并提高净光合速率^[20], 上述研究表明, 农药可以抑制植物的生长和代谢。本研究结果表明, 氯氟氰虫酰胺和甲维盐树干注药后可在短期内使马尾松针叶叶绿素、可溶性糖含量降低, 表明该 2 种药剂对叶绿素、可溶性糖含量具有抑制作用, 随着处理时间的延长, 针叶抵制药剂富集作用后逐渐适应, 叶绿素、可溶性糖含量又可恢复至对照水平, 而 MDA 含量先增加后减少, 表明树干注药后马尾松的防御系统首先产生应激反应, 生产大量 MDA, 随着时间的推移, 药剂对马尾松的胁迫逐渐减弱, 马尾松树体可通过自身的调节作用恢复正常的生理生化代谢水平。同时, 氯氟氰虫酰胺树干注射不同程度地提高马尾松针叶内 SOD, PAL 的活

性,这与唐光辉等^[16]研究结果相一致。此外,脯氨酸(与细胞壁的形成有关)含量变化和其他生理指标测定在后续的试验中进行完善,同时将测定氯氟氰虫酰胺注干后土壤相关酶变化等,以便更好评价氯氟氰虫酰胺注干后对马尾松生长和代谢的影响。

树干注药的药剂使用不当会对树体产生药害,周家华等^[21]进行柑橘 *Citrus reticulata* Blanco 保果试验时,大剂量使用“喷施灵”增加了柑橘的落果量;陈运全等^[22]使用高浓度营养液注射柑橘枝干后导致受害枝叶全部脱落。本试验过程中发现,用 30 mL 氯氟氰虫酰胺和甲维盐液体剂注射 3~4 年生马尾松苗时,导致部分松苗死亡,而注射 5 年生以上马尾松苗时,则未出现松苗死亡现象,表明药剂不论注干还是叶面喷施时使用剂量要适量。有关氯氟氰虫酰胺树干注射的有效剂量,药剂在马尾松树体内的残留时间以及马尾松树体应对氯氟氰虫酰胺胁迫和自我调节恢复机制,有待于进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 王慧瑜, 赵玉安, 贾耀军. 树干注射施药技术研究概况[J]. 农药学报, 2005, 7(2): 104-108.
- [2] 高瑞桐, 冯秀丽, 沈波, 等. 吡虫啉杀虫剂注干对 4 种鞘翅目害虫毒杀效果研究[J]. 林业科学研究, 2004, 17(2): 263-266.
- [3] 马云萍, 杨群辉, 樊永言, 等. 32% 树虫净树干注射防治樟大蓑蛾试验[J]. 云南农业科技, 2011(5): 56-57.
- [4] 周林森, 王卫斌. 两种树干打孔注射工具对防治注干害虫的效果研究[J]. 山东林业科技, 2012(01): 35-36, 38.
- [5] 唐光辉, 江志利, 张文锋, 等. 树干注药防治椰心叶甲药效试验[J]. 中国森林病虫, 2006, 25(4): 39-41.
- [6] 唐光辉. 30% 敌敌畏、氧化乐果注干液剂对木本植物的药害机理及药效研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2001: 37.
- [7] 邢家华, 孔小林, 彭伟立, 等. 一种含氧基的邻苯二甲酰胺类化合物、制备方法和作为农用化学品杀虫剂的用途: CN 101935291 A[P]. 2011.
- [8] TOHNISHI M, NAKAO H, FURUYA T, *et al.* Flubendiamide, a novel insecticide highly active against lepidopterous Insect Pests[J]. J Pestic Sci, 2005, 30(4): 354-360.
- [9] 李洋, 李森, 柴宝山, 等. 新型杀虫剂氯氟氰虫酰胺[J]. 农药, 2006, 45(10): 698-699.
- [10] 邢家华, 朱冰春, 袁静, 等. 新型杀虫剂氯氟氰虫酰胺对不同鳞翅目害虫的毒力及田间防效[J]. 农药学报, 2013, 15(2): 159-164.
- [11] 邢家华, 袁静, 郁季平, 等. 新型杀虫剂氯氟氰虫酰胺对棉铃虫的毒力和田间防效[J]. 农药, 2015, 54(11): 842-843.
- [12] 温小遂, 廖三腊, 张林平, 等. 氯氟氰虫酰胺与数种农药林间防治松材线虫病效果比较[J]. 生物灾害科学, 2016, 39(3): 199-202.
- [13] 张宪政. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1989, 62-70.
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001, 195-196.
- [15] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006, 5.
- [16] 唐光辉, 张璟, 何军, 等. 树干注药对柳树几种保护酶活性及游离脯氨酸含量的影响[J]. 中国农业大学学报, 2007, 12(3): 32-36.
- [17] 高俊凤. 植物生理学试验技术[M]. 北京: 世界图书出版公司, 2000: 203-204.
- [18] DEDEK W., PAPE J. Integrated pest control in forest management combined use of pheromones and insecticides for attracting and killing the bark beetle *Ips typographus*. Studies with ³²P labeled Methamidophos in the Ascending sap of spruce[J]. For Ecol Manag, 1988, 26(1): 47-61.
- [19] 唐光辉, 田鹏鹏, 冯俊涛. 树干注药对柳树叶片几种生理指标的影响[J]. 农药学报, 2006, 8(4): 383-386.
- [20] 董英, 汪维云, 吴春笃, 等. 桃树茎部施药的生理基础研究[J]. 农业机械学报, 1999, 30(5): 76-80.
- [21] 周家华. 柑桔树干注液保花保果试验[J]. 中国柑桔, 1993, 22(4): 29.
- [22] 陈运全. 柑桔树干注射营养液的经验[J]. 中国柑桔, 1993, 22(4): 29.