

尹鑫,赵尊康,王惠明,等.原卟啉原氧化酶(PPO)抑制剂对水葫芦的影响和安全性评估[J].江西农业大学学报, 2020,42(4):821-828.



原卟啉原氧化酶(PPO)抑制剂对水葫芦的影响和安全性评估

尹鑫¹,赵尊康¹,王惠明²,俞莹²,周春火^{1*}

(1.江西农业大学 国土资源与环境学院/江西省农业废弃物资源化利用与面源污染防治产教融合重点创新中心/南昌市农业农田养分资源管理与农业面源污染防治重点实验室,江西 南昌 330045;2.江西省农业生态与资源保护站,江西南昌 330046)

摘要:【目的】水葫芦是我国重大外来入侵生物之一,其综合防治研究具有十分重要的意义。期望通过考察不同类型的原卟啉原氧化酶(PPO)抑制剂对水葫芦不同部位的影响,筛选合适的水葫芦抑制剂,并对该类抑制剂进行水体安全性评估,为水葫芦的化学防治提供理论基础和数据支撑。【方法】通过盆栽实验分别考察氟磺胺草醚、乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺对水葫芦鲜质量、分蘖、叶面、叶柄、根长和新根的影响,考察其对水葫芦的综合防效;分别考察这4种抑制剂对四尾栅藻生长速率的影响,根据其应急毒性和半抑制浓度评估对抑制剂进行安全性评估。【结果】首先,草胺类PPO抑制剂丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺对水葫芦的鲜质量、分蘖、根长、新根、叶面和叶柄的防效均强于二苯醚类抑制剂氟磺胺草醚和乙氧氟草醚;其次,施加氟磺胺草醚后30 d,水葫芦的枯叶指数和枯柄指数分别只有65.4%和44.0%,反而低于第20天的77.6%和48.9%,表现出一定的返青现象;再次,施加乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺30 d后对水葫芦枯叶和枯柄防效均达到了100%;最后,当抑制剂浓度为3.0 mg/L时,氟磺胺草醚、乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺对四尾栅藻的生长抑制率分别为73.0%、75.7%、27.0%和16.2%。【结果】结果显示,相比二苯醚类PPO抑制剂,草胺类抑制剂对水葫芦的防效更好,毒性更低。

关键词:水葫芦;原卟啉原氧化酶;抑制剂;防效;安全性评估

中图分类号:S555+.5;X52 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-2286(2020)04-0821-08

Effects of Protoporphyrin Prooxidase Inhibitors on Water Hyacinth Removal and Safety Assessment

YIN Xin¹, ZHAO Zun-kang¹, WANG hui-ming², YU Ying², ZHOU Chun-huo^{1*}

(1. College of Land Resource and Environment, Key Innovation Center of Production and Education Integration of Jiangxi Province Agricultural Waste Resource Utilization and Non-Point Source Pollution Prevention and Control, Key Laboratory of Nutrition Management of Crops, Prevention and Controlling of Agricultural Non-Point Source Pollution of Nanchang, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Jiangxi Agricultural Ecology and Resource Protection Station, Nanchang 330046, China)

收稿日期:2019-12-20 **修回日期:**2020-02-20

基金项目:国家自然科学基金项目(21707057)、农业部财政项目、江西省自然科学基金项目(20192BAB213018)、江西省教育厅项目(GJJ170265, GJJ180195)和江西省水利厅科技项目(KT201611)

Project supported by the Natural Science Foundation of China (21707057), Financial Projects of the Ministry of Agriculture, Natural Science Foundation of Jiangxi Province (20192BAB213018), Jiangxi Province Education Department Project for the Financial Support (GJJ170265, GJJ180195) and Jiangxi Water Science and Technology Fund (KT201611)

作者简介:尹鑫, orcid.org/0000-0001-5974-3990, yinxin1081@163.com; *通信作者:周春火,副教授,博士,主要从事面源污染修复研究, orcid.org/0000-0002-3049-9928, zchh3366@163.com。

Abstract: [Objective] Comprehensive control of water hyacinth is of great significance, which is one of the most important invasive organisms in China. [Methods] These experiments were to investigate the effects of protoporphyrin prooxidase (PPO) inhibitors on different positions of water hyacinth. The control effects of inhibitors, such as fluorosulfonate, ethoxyfluoroether, propylenechloroxachlor and benzosulfuramide were investigated, and a safety assessment was conducted so as to provide theoretical basis and data support for chemical control of water hyacinth. [Results] First, the control effects of propylenechloroxachlor and benzosulfuramide on fresh weight, tillering, root system leaf surface and petiole were higher than those of fluorosulfonate and ethoxyfluoroether. Second, the leaf index and dry shank index were 65.43% and 43.98% 30 days after applying fluorosulfonate, which were lower than those 20 days after the application, i.e. 77.62% and 48.85%. Third, the control effects of ethoxyfluoroether, propylenechloroxachlor and benzosulfuramide on leaf surface and petiole reached 100% 30 days after application. Lastly, at the concentration of 3.0 mg/L, fluorosulfonate, ethoxyfluoroether, propylenechloroxachlor and benzosulfuramide decreased the growth rate of *Scenedesmus quadricauda* by 73.0%, 75.7%, 27.0% and 16.2%, respectively. [Conclusion] Experimental results proved that Achor herbicides had much more efficiency and lower toxicity than diphenyl ether herbicides for comprehensive control of water hyacinth.

Keywords: water hyacinth; protoporphyrin prooxidase; inhibitors; control effects; safety assessment

【研究意义】水葫芦,又名凤眼蓝、凤眼莲,于20世纪引入我国,因其较高的观赏价值、营养价值和药用价值被大量养殖^[1]。然而,近年来由于工、农业的发展和人民生活水平的提高,大量的工、农业废水和生活污水的排放导致自然水体污染加剧,水体富营养化严重。水葫芦须根发达,生长繁殖极快,严重挤压了其他水生植物的生长营养和生存空间,对本地生物多样性构成威胁^[2]。当前,由于水葫芦恶性增长导致河道、航道堵塞和排灌困难的环境事件层出不穷。因此,水葫芦的综合防治研究具有十分重要的意义。【前人研究进展】长期以来,水葫芦的综合防治是一项世界性难题。目前各国对于水葫芦的防治主要有物理防治、化学防除和生物防治。物理防治主要是采用人工打捞或机械清除的方式,该方法对小范围水葫芦防治见效较快,但对于水葫芦发生面积较大的防治往往不尽如人意。水葫芦物理防治人力成本高、劳动强度大并且运输成本高。而且物理防治方法并不能杀死水葫芦种子,长期防治效果不佳。生物防治主要是引进天敌水葫芦象甲,目前已经在多个国家和地区取得成功。我国王庆梅等^[3]通过引进水葫芦象甲取得了很好的试验效果。然而,水葫芦象甲受到环境气候影响较大,该昆虫幼虫在我国越冬困难,需要重复引进,引进成本较高。而且,水葫芦象甲也属于外来生物,引进有可能导致带来另外的生态风险导致新的生态问题^[4]。目前,治理水葫芦泛滥最快的方法是化学防除,即使用化学除草剂杀死水葫芦。江洪涛等^[5]利用草甘膦防治水葫芦取得了较好的效果,草甘膦能够通过内吸传导抑制幼芽、幼叶生长。Ashwini等^[6]研究发现当草甘膦浓度为0.8%时,其可以与象甲共存减少水葫芦分蘖并控制叶片生长达到控制水葫芦的目的。游泳等^[6]研究表明,投加浓度为1.9 g/L的草甘膦异丙胺盐可以很好的抑制水葫芦的新根和叶片,但对叶柄和鲜质量的防除效果较差。蔡英杰等^[7]采用克无踪防治水葫芦也取得了比较好的效果,喷药后8 d其死亡率即达到了99%的效果;陈若霞等^[8]发现水花生净对水葫芦具有更好的防治效果。此外,草克星(10%吡磺啉隆可湿粉)和农达(41%草甘膦水剂)对于水葫芦的快速防治也具有一定的效果。然而,尽管化学控制效果明显,但已有的化学除草剂都难免会对自然水体造成污染,进而影响水生生物的正常生长,破坏水生生态系统稳定。而且,水葫芦对于农药会逐渐产生抗药性,使得防治水葫芦的农药量呈逐年增加的趋势^[9]。因此,一些新型低毒、高效除草剂的引进和安全性评估对于水葫芦的防治具有重要的意义。

【本研究切入点】近年来,原卟啉原 IX 氧化酶(PPO)抑制剂引起了农药研究者的广泛关注。PPO是生物体叶绿素和血红素合成链上的最后一个酶,广泛存在于高等动物、植物、细菌和真菌等多种生命形式中^[10]。植物体内有2种PPO,分别活跃于叶绿体和线粒体上。定位于杂草细胞叶绿体上的PPO被抑制后,生物合成叶绿素机制被阻断,使得细胞产生破坏进而使杂草生长受到抑制或死亡。PPO抑制型除草剂具有高效、低毒、作用时间快、药效持久度高等一系列优点^[11]。而且,相对于其他除草剂而言,PPO类除

草剂的抗性增长较为缓慢,关于PPO除草剂抗性的报道较少。目前,PPO抑制剂主要分为二苯醚类和杂环类2种。二苯醚类抑制剂研究起步较早,主要包括乙氧氟草醚、福锁草醚和氟磺胺草醚等抑制剂,这类抑制剂目前仍然被应用于杂草的去除。近年来,一些杂环如三氟甲基被引入,经过进一步的结构修饰形成了一些新的PPO抑制剂型除草剂如双苯醚草酮、苯醚环草胺,极大的提高了除草剂的活性并且减少了药剂的使用量。显然,根据其作用机制,有理由相信PPO抑制剂也会对水葫芦的生长具有一定的抑制作用^[12]。但是目前还没有关于PPO抑制剂类除草剂作用于水葫芦的相关研究,作用于水体的安全性评估也未见报道。【拟解决的关键问题】本研究选取几种具有代表性的基于PPO抑制剂,考察其对水葫芦的防治效果,并对其作用于水体后的残留进行安全性评估。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用的水葫芦来自江西农业大学水处理实践基地污水处理池。

本试验所用的抑制剂主要有氟磺胺草醚、乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺,均购于美国西格玛奥德里奇生命科学与高科技集团公司。按照Park等^[13]描述的方法,首先将抑制剂溶于二甲基亚砜中,所配置的母液浓度为100 mmol/L。再将母液和超纯水按照体积比为0.05%配置为水剂。

本试验所用的四尾栅藻取自实验室藻种库。

1.2 盆栽试验

首先,从水处理实践基地污水处理池中选取大小和长势基本一致的15株水葫芦置于36 cm×36 cm的塑料盆内,深度为10 cm,培养水源为水处理实践基地污水(江西农业大学生活污水)。按照Park等^[13]描述的方法水葫芦喷药量为100 mL,分别在喷药后第1、5、10、20和30天观察抑制效果并记录死亡天数和1个月之后的复活率。

1.3 毒性试验

根据《化学农药环境安全评价试验准则》设置实验方案如下:设置抑制剂浓度梯度为0,0.25,0.5,1.0,2.0,3.0 mg/L。将抑制剂加入四尾栅藻初浓度为190个/mL的BG11培养液后摇匀放入光照培养箱,设置光照培养箱光照强度为4 000 lx,连续光照,温度为(23±1)℃,每24 h取样在显微镜下观察藻密度。试验结果按照《化学农药环境安全评价试验准则》进行抑制剂毒性等级划分。

1.4 数据统计

试验调查过程中,叶片和叶柄采用分级统计方法,枯叶(枯柄)防效和鲜质量防效主要计算公式如下:

$$\text{叶片(叶柄)防效} = [\text{处理组枯叶(叶柄)指数} - \text{对照组枯叶(叶柄)指数}] \div [100 - \text{对照组枯叶(叶柄)指数}] \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{鲜质量防效} = [\text{处理前鲜质量} - \text{处理后鲜质量}] \div \text{处理前鲜质量} \times 100\% \quad (2)$$

统计学分析采用SPSS和Origin软件,并分别用单因素方差分析和Duncan法进行分析不同处理间的差异和多重比较分析。

2 结果与讨论

2.1 不同种类抑制剂对水葫芦鲜质量的影响

首先,分别考察了氟磺胺草醚、乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺对水葫芦鲜质量的影响。研究发现,当分别喷洒这4种抑制剂后,水葫芦移栽后的生长表现存在明显的差别(图1)。移栽后第1天,经过抑制剂作用后的水葫芦鲜质量均没有明显的增加或者减退迹象。移栽后第5天,对照水葫芦鲜质量从0.35 kg增加到0.42 kg,鲜质量增加了20%,经过氟磺胺草醚施加后的水葫芦也增加到0.37 kg,相比移栽前仅增加了5.7%。显然,氟磺胺草醚的增加虽然没有对水葫芦产生防效但是也抑制了水葫芦的生长,鲜质量防效为11.9%。但是,与氟磺胺草醚同为醚类物质的乙氧氟草醚施加5 d后,水葫芦鲜质量降到了0.33 kg,其导致水葫芦的5 d鲜质量减退防效达到了8.50%,鲜质量防效达到了23.8%。此外,研究结果显示草胺类抑制剂的施加对于水葫芦具有更好的防效,丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺的施加,使得移栽5 d后水葫芦鲜质量分别只有0.31和0.30 kg,水葫芦鲜质量减退率分别达到了11.4%和14.3%。相比对照的

鲜质量防效高达 26.2% 和 28.6%。然而,随着时间的延长,醚类抑制剂和草胺类抑制剂出现了明显不同的趋势。当盆栽实验进行到第 30 天时,施加氟磺胺草醚和乙氧氟草醚后的水葫芦出现了一定程度的返青现象,其鲜质量相比移栽前鲜质量都有所增加。相比移栽前,其鲜质量分别增加了 68.6% 和 57.1%。但是,施加氟磺胺草醚和乙氧氟草醚后对水葫芦具有一定的防效,其鲜质量低于对照,防效率分别为 20.3% 和 25.7%。施加草胺类 PPO 抑制剂的水葫芦呈现明显的鲜质量减退现象。第 30 天,丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺的施加水葫芦的鲜质量分别只有 0.24 和 0.22 kg,其鲜质量减退率达到了 31.4% 和 37.4%,鲜质量防效更是达到了 66.7% 和 69.4%。试验结果表明,4 种 PPO 抑制剂均对水葫芦有一定的鲜质量防效,但是草胺类抑制剂的鲜质量防效明显高于醚类抑制剂。丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺虽然与氟磺胺草醚、乙氧氟草醚等二苯醚类 PPO 抑制剂的作用机理相似,但化学结构完全不同。丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺等 PPO 抑制剂结构中引入了大量的杂环化合物。Yang 等^[14]研究表明,杂环和卤素取代基的引入可能使化合物的 PPO 的活性腔结构发生了变化,并直接影响抑制剂的范德华力与受体蛋白的结合能,这可能是草胺类 PPO 抑制剂对水葫芦具有更好防效的根本原因。

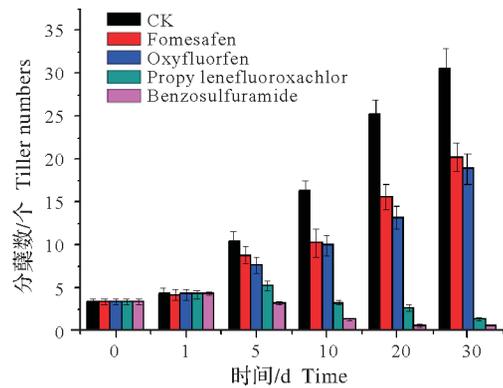
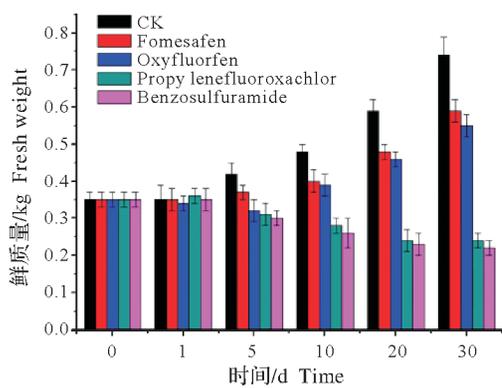


图1 不同PPO抑制剂喷施后水葫芦鲜质量随时间的变化 图2 不同PPO抑制剂喷施后水葫芦分蘖随时间的变化
Fig.1 The variation of fresh weight over time after different PPO inhibitors application Fig.2 The variation of tiller numbers over time after different PPO inhibitors application

2.2 不同种类抑制剂对水葫芦分蘖的影响

水葫芦通过合轴分支的生长方式进行生长繁殖,通过叶腋间长出腋芽最终生成新株,因此如能控制水葫芦的分蘖对于其防治将能够起到事半功倍的效果^[15]。因此试验还分别考察了氟磺胺草醚、乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺对水葫芦分蘖的影响。如图 2 所示,4 种 PPO 抑制剂的施加对水葫芦的分蘖均产生了一定的抑制,但抑制效果存在一定的差异性。施药前,水葫芦的分蘖平均数为 3.37 个,当施氟磺胺草醚和乙氧氟草醚 30 d 后,水葫芦分蘖增长到了 20.3 和 18.9 个,相比对照的 30.6,2 种草醚类 PPO 抑制剂对水葫芦的分蘖防效分别为 33.9% 和 38.5%。显然,草醚类 PPO 抑制剂虽然抑制了水葫芦的分蘖,但对水葫芦并没有起到完全的灭杀作用。但是,经过丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺的施加,30 d 后水葫芦的分蘖数减少到了 1.35 和 0.61 个,2 种草胺类抑制剂对水葫芦的分蘖防效达到了 95.6% 和 98.0%,水中水葫芦几乎被完全灭杀。显然,相比 2 种二苯醚类 PPO 抑制剂,加入杂环的新型 PPO 抑制剂对于水葫芦的分蘖防效更佳。

2.3 不同种类抑制剂对水葫芦叶面和叶柄的影响

抑制剂主要通过叶面吸收抑制植物细胞的叶绿素生物合成链上的 PPO,导致植物光合作用被破坏最终使得植物生长被抑制而死亡。如表 1 所示,无论是对照还是抑制剂处理后的水葫芦叶面枯叶指数均呈现上升趋势。但经过抑制剂处理后的水葫芦叶面枯叶指数明显上升更快。而且,与鲜质量结果不一样的是,抑制剂喷施过后的第 1 天,水葫芦即出现了明显的枯叶,4 种抑制剂的枯叶指数分别为 6.06%、6.15%、7.27% 和 8.02%。相比前人研究结果,PPO 抑制剂喷施后的水葫芦与其他除草剂相比枯叶出现的频率明显更快。此外,4 种抑制剂喷施后的效果存在较大的不同。氟磺胺草醚药后第 20 天,枯叶指数达到了 77.6%,并且之后出现了明显的返青现象,药后 30 d,枯叶指数又上升到了 65.4%。与氟磺胺草醚相

比,乙氧氟草醚枯叶增长率明显更快,药后第20天,枯叶指数均达到了100%并且不再返青。相比二苯醚类PPO抑制剂,草胺类抑制剂对水葫芦的枯叶防效更好,药后第10天其枯叶指数均达到了100%,且不再返青。

表1 不同种类抑制剂对水葫芦叶面枯叶指数的影响
Tab.1 Effects of different PPO on leaf surface of water hyacinth %

处理方法 Treatment method	处理前 Before treatment			处理后 After treatment		
	0 d	1 d	5 d	10 d	20 d	30 d
	对照 Control	3.98±0.45	4.23±0.65	5.57±0.98	7.86±0.84	7.26±0.45
氟磺胺草醚 Fluorosulfonate	3.98±0.45	6.06±0.29	18.49±1.51	75.38±5.94	77.62±6.94	65.43±5.64
乙氧氟草醚 Ethoxyfluoroether	3.98±0.45	6.15±0.33	33.54±1.59	83.51±4.58	100±0	100±0
丙炔氟草胺 Propylenefluoroxachlor	3.98±0.45	7.27±0.49	45.98±1.88	100±0	100±0	100±0
苯嘧磺草胺 Benzosulfuramid	3.98±0.45	8.02±0.55	49.99±3.45	100±0	100±0	100±0

表2 不同种类抑制剂对水葫芦叶柄枯柄指数的影响
Tab.2 Effects of different PPO on petiole of water hyacinth %

处理方法 Treatment method	处理前 Before treatment			处理后 After treatment		
	0 d	1 d	5 d	10 d	20 d	30 d
	对照 Control	2.89±0.24	3.03±0.56	5.01±0.98	5.59±0.46	6.18±0.45
氟磺胺草醚 Fluorosulfonate	2.89±0.24	2.95±0.28	18.49±1.51	35.26±2.42	48.85%±6.35	43.98±3.64
乙氧氟草醚 Ethoxyfluoroether	2.89±0.24	3.15±0.51	23.77±2.26	38.59±3.36	79.93±5.64	100±0
丙炔氟草胺 Propylenefluoroxachlor	2.89±0.24	3.27±0.46	35.67±2.59	54.26±7.75	100±0	100±0
苯嘧磺草胺 Benzosulfuramid	2.89±0.24	4.09±0.29	38.38±2.96	68.94±7.64	100±0	100±0

如表2所示,4种PPO抑制剂对叶柄的防效与叶面防效大致相同,5试验枯柄指数大致均呈现上升的趋势,对照第30天枯柄指数大约为6.46%。但喷施PPO抑制剂后出现枯柄的时间明显晚于叶片,这可能与抑制剂的传输存在一定的关系。药后第1天,并没有出现明显的枯柄,直到药后第5天才有明显的枯柄出现。与叶面结果类似,氟磺胺草醚药后第30天,叶柄也出现了一些返青现象,药后30d,其枯叶指数达到了44.0%。乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺在药后第30天、20天和20天枯叶指数均达到了100%且不再返青。根据前人研究成果,尽管作用于防治水葫芦的基本原理大致相同,但由于其化学结构的区别导致其自由活化能大不相同,并且其与水葫芦细胞的结合能也存在很大的区别,最终导致不同的PPO抑制剂对水葫芦具有不同的防效^[16]。

2.4 不同种类抑制剂对水葫芦根系的影响

王长方等^[17]认为由于除草剂对水葫芦不同部位的毒力不同,采样株防效或鲜质量作为评价标准不能准确反映除草剂对水葫芦各部位的防效。因此本试验还分别考察了不同种类PPO抑制剂对水葫芦根长和

新根的影响。如图 3a 所示,移栽 30 d 后,对照水葫芦根长从 3.95 cm 长到了 23.95 cm,增长了 5.06 倍。而施加氟磺胺草醚和乙氧氟草醚的水葫芦根长 30 d 后仅仅分别长到了 15.58 和 14.87 cm,相比移栽前增长了 2.94 和 2.76 倍,但是相比对照减少了 34.95% 和 37.9%。显然,与前面鲜质量和分蘖的结果类似,二苯醚类 PPO 抑制剂对水葫芦具有一定的防治效果,但防治效果欠佳。但是,施加丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺后,水葫芦根基本上不再生长。产生此类现象的原因可能是因为草胺类 PPO 抑制剂虽然仅仅施加于叶面抑制叶片进行光合作用,但是也很快影响了根系对营养物质的吸收,因而导致水葫芦根不再生长。

此外,本试验还考察了 PPO 抑制剂对于新根的防效。与根长结果类似,草胺类 PPO 抑制剂对于新根的防效有明显强于二苯醚类抑制剂。移栽后,对照和施加抑制剂的水葫芦根系均出现了新根的生长,但对照明显生长更快。喷施后第 5 天,对照和喷施氟磺胺草醚、乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺的水葫芦新根数分别为 1.68、1.5、1.11、1.04 和 0.98 个,并且一直到喷施抑制剂后 10 天新根均持续生长。但是到第 20 天,喷施乙氧氟草醚、丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺的水葫芦新根数不再继续增长,此时这 3 个试验组的水葫芦新根数为 2.31、1.92 和 1.64 个。喷施苯嘧磺草胺的新根防效依然最好,其新根防效达到了 53.7%。前人研究表明,在光的作用下 PPO 抑制剂通过对 PPO 的抑制,会导致光敏性物质原卟啉 IX 短期内在细胞质内大量聚集并向细胞质转移,最终经过一系列的复杂反应导致细胞膜发生过氧化反应导致细胞死亡,从而使得叶片和叶柄枯萎。该类抑制剂虽然仅仅作用于叶片和叶柄,但植物合成有机物必须通过叶片和叶柄光合作用来生成^[18]。显然,光合作用被破坏不仅会导致水葫芦叶片枯萎而无法进行光合作用,而且会使得根部吸收的营养无法向叶柄和叶面转移,最终使得根部无法继续增长,新根无法生成。

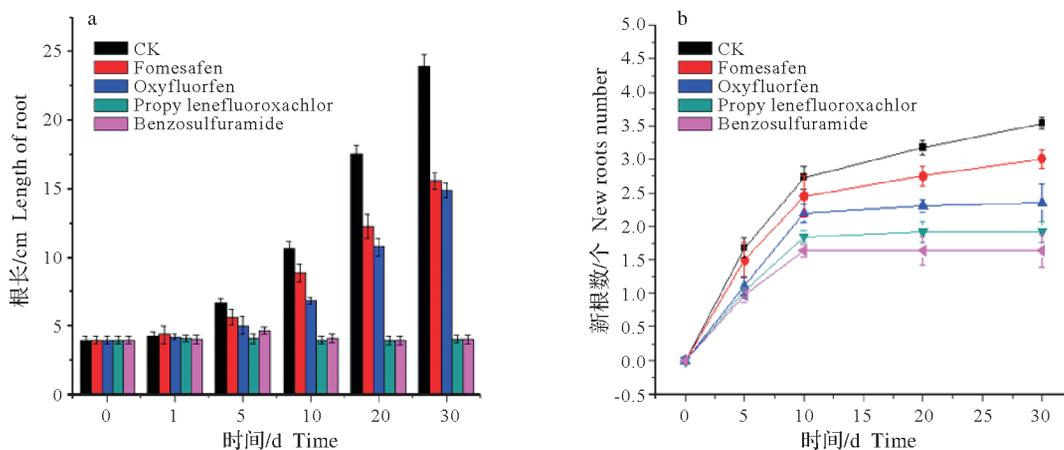


图 3 不同种类抑制剂处理后的水葫芦根长和新根数对比

Fig.3 Comparison of length of root and new roots numbers after different PPO inhibitors application

2.5 不同种类抑制剂对四尾栅藻的应急毒性

根据《化学农药环境安全评价试验准则》,农药的使用必须进行安全风险评估。因此,本试验通过考察不同种类、不同浓度 PPO 抑制剂对四尾栅藻生长速率的影响和应急毒性评估其对水体的安全风险。试验设置的抑制剂浓度梯度 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3 mg/L。研究表明二苯醚类和草胺类 PPO 抑制剂对四尾栅藻生长速率的抑制呈现不同的趋势,如图 4 所示。以氟磺胺草醚抑制剂为例,当抑制剂浓度从 0 增加至 1 mg/L 时,藻种虽然生长率有所抑制,但生物量依然随时间延长呈现增长的趋势。但小瓶反应至 96 h 时,藻种密度从 190 个/mL 增加到 300 个/mL,增长了 57.9%,相比对照(380 个/L)生物量减少了 21.1%。随着浓度的继续升高至 2.0 mg/L 和 3.0 mg/L 时,其生长率和生物量均持续降低。相比对照,其生物量抑制率分别达到了 51.3% 和 73.7%。乙氧氟草醚与氟磺胺草醚趋势相似,其半抑制浓度均小于 3.0 mg/L 但大于 0.3 mg/L,对于四尾栅藻而言,属于中度农药。丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺两种抑制剂对四尾栅藻生长的影响与二苯醚类有所不同,在本试验设置的浓度梯度内四尾栅藻虽然生长率有所抑制,但其生物量在 96 h 内一直呈现上升的趋势。以苯嘧磺草胺为例,当浓度达到 3.0 mg/L 时,96 h 后,对照组和试验组的四尾栅藻密度分别为 370 和 310 个/mL,生物量抑制率为 16.2%。因此,根据《化学农药环境安全评价试验准则》,本试验采用的 4 种 PPO 抑制剂,氟磺胺草醚和氟磺胺草醚对于四尾栅藻而言属于中

度,丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺属于低毒。但是前人研究表明,在生态毒理试验中,不同藻类对同一农药的敏感性并不一样,敏感性强的一旦接触农药生长数量就会马上受到影响。同一类藻,农药的结构和理化性质是造成毒性效应差异的主要原因。邹立等^[19]发现有机磷农药中苯环的存在加剧了该类农药的毒性。孙玲玉等^[20]发现盘星藻对于手性农药甲霜磷的毒性比斜生栅藻要敏感。但是对于同一种藻而言,农药的毒性越强,藻细胞的生长速率越缓慢。因此本试验虽然不能完全表征这4种抑制剂属于哪个农药毒性等级,但可以证明草胺类抑制剂的毒性风险相比二苯醚类要更弱,并且对于水葫芦的灭杀效果更强,更适合用于水葫芦的防治。

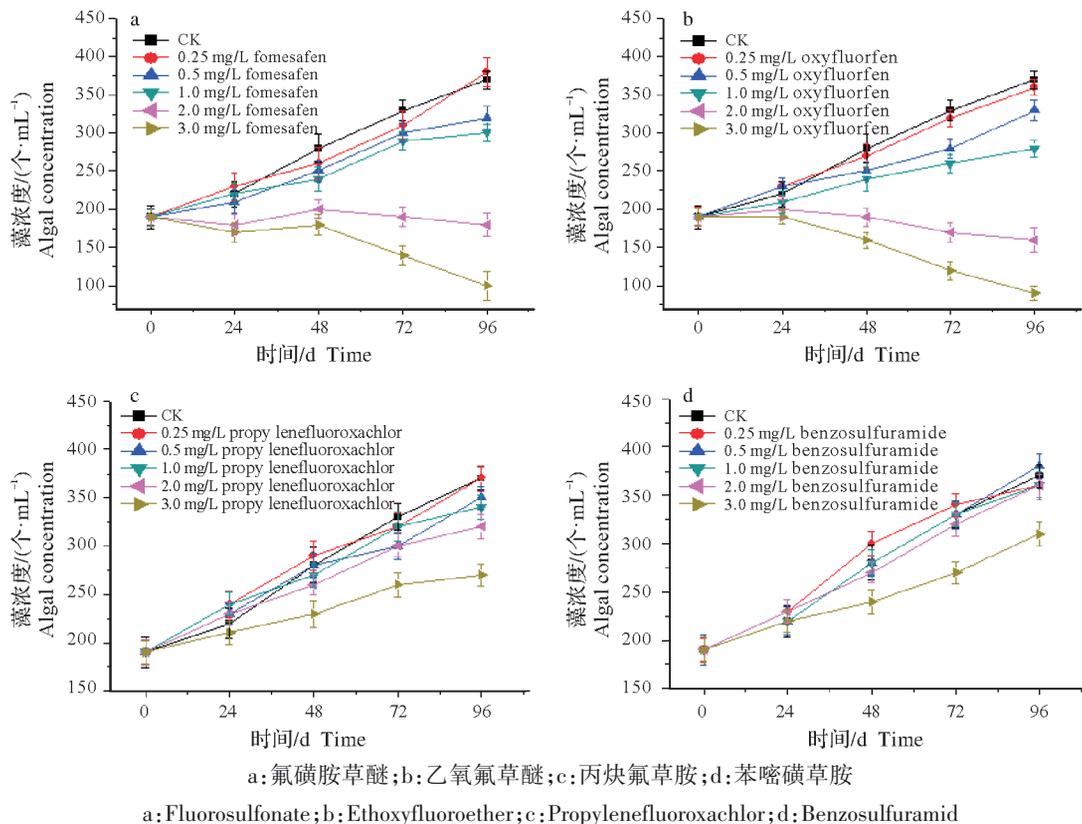


图4 不同种类抑制剂对四尾栅藻生长的影响

Fig.4 the effects of different PPO inhibitors on the growth of *Scenedesmus quadricauda*

3 结论与讨论

通过盆栽和应急毒性试验分别考察了4种PPO抑制剂对水葫芦生长的影响并做了安全评估。研究结果表明:(1)草胺类PPO抑制剂丙炔氟草胺和苯嘧磺草胺对水葫芦的鲜质量、分蘖、根长、新根、叶面和叶柄的防效均强于二苯醚类抑制剂氟磺胺草醚和乙氧氟草醚;(2)相比草胺类抑制剂,应用二苯醚类抑制剂更容易出现返青现象;(3)毒性试验结果表明,草胺类抑制剂的毒性风险相比二苯醚类要更弱。综合对比结果显示,草胺类抑制剂更适合水葫芦的综合防治。

采用化学防治水葫芦具有见效快的特点,但如何减少化学用量,降低化学药剂对水生生物的毒性依然是一个任重道远的重要课题。本研究利用盆栽试验证明了PPO抑制剂在水葫芦防治上具有一定的优势,但是其是否能应用较大水面并对水生生物保证低毒性依然有待进一步研究。而且,化学除草剂的抗药性是一个永恒的话题,PPO抑制剂作用于水葫芦的机理研究和抗药性研究也具有十分重要的意义。

参考文献:

[1] 江洪涛,张红梅.国内外水葫芦防治研究综述[J].中国农业科技导报,2003,5(3):72-75.

Jiang H T, Zhang H M. Summary of research on water hyacinth control at home and abroad [J]. China Agricultural Science and Technology Guide, 2003, 5(3): 72-75.

- [2] Zhuang H, Zhu H, Zhang J, et al. Enhanced 2, 4, 6-trichlorophenol anaerobic degradation by Fe₃O₄ supported on water hyacinth biochar for triggering direct interspecies electron transfer and its use in coal gasification wastewater treatment [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 296: 122306.
- [3] 王庆海, 丁建清, 张国良, 等. 用不同日龄水葫芦叶片饲养对水葫芦象甲的影响 [J]. *中国生物防治学报*, 2002, 8(2): 96.
Wang Q H, Ding J Q, Zhang G L, et al. Effects of different day age water hyacinth leaves on weevil of water hyacinth [J]. *Journal of Chinese Biological Control*, 2002, 8(2): 96.
- [4] Firehun Y, Struik P C, Lantinga E A, et al. Adaptability of two weevils (*Neochetina bruchi* and *Neochetina eichhorniae*) with potential to control water hyacinth in the Rift Valley of Ethiopia [J]. *Crop Protection*, 2015, 76: 75-82.
- [5] Ashwini J, Martin H, Marcus B. Identification of a retardant dose of glyphosate with potential for integrated control of water hyacinth, *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. Laubach [J]. *Biological Control*, 2008, 47(2): 154-158.
- [6] 游泳, 王长方, 王俊, 等. 草甘膦异丙胺盐剂防除水葫芦效果及其在水中的残留 [J]. *福建农业学报*, 2007, 22(2): 167-171.
You Y, Wang C F, Wang J, et al. Glyphosate isopropylamine salt water agent to prevent water hyacinth and its residue in water [J]. *Journal of Fujian Agriculture*, 2007, 22(2): 167-171.
- [7] 蔡英杰, 陈丽玲, 刘学东. 防除水葫芦除草剂的筛选 [J]. *杂草科学*, 2008(4): 73-74.
Cai Y J, Chen L L, Liu X D. Screening of water hyacinth herbicides [J]. *Weed Science*, 2008(4): 73-74.
- [8] 陈若霞, 王扬军, 古斌权, 等. 水葫芦生物防治和综合治理技术研究 [J]. *宁波农业科技*, 2005(4): 17-18.
Chen R X, Wang Y J, Gu B Q, Research on biological control and comprehensive treatment of water hyacinth [J]. *Ningbo Agricultural Science and Technology*, 2005(4): 17-18.
- [9] Vanessa D, Tobias J, Louise, et al. Impacts of water hyacinth treatment on water quality in a tidal estuarine environment [J]. *Biological Invasions*, 2019, 21(12): 3479-3490.
- [10] Serqio F S, Fernandes P A, et al. Protein-Ligand docking: current status and future challenges [J]. *Proteins Structure Function & Bioinformatics*, 2006, 65(1): 15-26.
- [11] Dayan F E, Owens D K, Duke S O. Rationale for a natural products approach to herbicide discovery [J]. *Pest Management Science*, 2012, 68: 519-528.
- [12] 杨盛刚. 新型原卟啉原氧化酶抑制剂的设计及构效关系研究 [D]. 武汉: 华中师范大学, 2015.
Yang S G. The design and structure-activity relationship of a novel proxycycline inhibitor [D]. Wuhan: Huazhong Normal University, 2015.
- [13] Park J, Ahn Y, Nam J, et al. Biochemical and physiological mode of action of tiafenacil, a new protoporphyrinogen IX oxidase-inhibiting herbicide [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 152: 38-44.
- [14] Yang H, Zhou Q, Li B, et al. GPU acceleration of Dock6's amber scoring computation [J]. *Oxygen Transport to Tissue XXXIII*, 2010, 680: 497-511.
- [15] 王一专, 吴竞仑. 中国水葫芦危害、防治及开发利用 [J]. *杂草科学*, 2004(3): 6-9.
Wang Y Z, Wu J L. Harm, prevention, development and Utilization of Chinese water hyacinth [J]. *Weed Science*, 2004(3): 6-9.
- [16] Diaz L, Bujons J, Delgado A, et al. Computational prediction of structure-activity relationships for the binding of aminocyclitols to β -glucocerebrosidase [J]. *J Chem Inf Model*, 2011, 51(3): 601-611.
- [17] 王长方, 游泳, 王俊, 等. 2, 4-D 丁酯水剂防除水葫芦的效果及其在水中的残留动态 [J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(5): 1719-1724.
Wang C F, You Y, Wang J, et al. Effect of 2, 4-D butyl ester on water hyacinth and its residual dynamics in water [J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2007, 26(5): 1719-1724.
- [18] Rangani G, Salas-Perez R, Aponte R, et al. A novel single-site mutation in the catalytic domain of protoporphyrinogen oxidase IX (PPO) confers resistance to PPO-inhibiting herbicides [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 558-562.
- [19] 邹立, 程刚, 李永祺, 等. 11 种有机磷农药对海洋微藻致毒效应的研究 [J]. *海洋环境科学*, 1998, 17(3): 29-34.
Zou L, Cheng G, Li Y, et al. Study on the toxicity of 11 kinds of organic phosphorus pesticides to marine micro-algae [J]. *Marine Environmental Science*, 1998, 17(3): 29-34.
- [20] 孙玲玉, 贾楚君, 魏晓敏, 等. 手性农药甲霜灵对两种淡水藻的毒性效应研究 [J]. *海南热带海洋学院学报*, 2019, 26(2): 46-51.
Sun Y L, Jia C J, Wei X M, et al. Study on the toxic effects of chiral pesticides on two species of freshwater algae [J]. *Journal of Hainan Institute of Tropical Oceanography*, 2019, 26(2): 46-51.