2025年3月

2025

Mar.

DOI: 10. 13718/j. cnki. xdzk. 2025. 03. 002

夏宇,李慧,张彤,等.基于叶绿素荧光成像技术的土壤含水量对除草剂药效影响研究 [J].西南大学学报(自然科学版), 2025, 47(3): 10-22.

基于叶绿素荧光成像技术的 土壤含水量对除草剂药效影响研究

夏宇1,2, 李慧2, 张彤1, 王沛1,2

- 1. 西南大学资源环境学院/长江经济带农业绿色发展研究中心, 重庆 400715;
- 2. 西南大学 工程技术学院/丘陵山区智能农机装备重庆市重点实验室, 重庆 400715

摘要:农田杂草防控是提高作物产量和质量的关键环节,叶绿素荧光成像技术因其具有高灵敏度、快速响应和非破坏性监测的能力,被广泛应用于除草剂胁迫杂草的鉴定。在除草剂胁迫过程中,土壤含水量影响除草剂的药效,因此利用反枝苋作为研究对象,通过 5 种不同的土壤含水量(5.8%、11.6%、17.4%、23.2%、29.0%)处理,分析了 3 种常见除草剂(莠去津、苯磺隆、禾草灵)胁迫后反枝苋的生理指标和暗适应后的最大光量子效率(QY_{max})的变化。结果表明:莠去津和苯磺隆对反枝苋的药效明显;与空白对照相比,禾草灵胁迫下反枝苋的生理指标和 QY_{max} 的变化规律无差异。在 5.8%土壤含水量的条件下,相较于空白对照,莠去津对反枝苋 QY_{max} 的影响呈现出滞后性;反枝苋受苯磺隆胁迫时,其 QY_{max} 的变化呈现出前期抗性后期敏感的特征。研究结果揭示了在不同土壤含水量的条件下,反枝苋面对不同种类除草剂所呈现出的荧光反应规律,这有利于高效运用叶绿素荧光成像技术开展农田杂草防控工作。

关键词:反枝苋;叶绿素荧光成像;土壤含水量;荧光信息参数

中图分类号: S24 文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2025)03-0010-13

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Identification of the Effect of Soil Moisture Content on Herbicide Efficacy Based on Chlorophyll Fluorescence Imaging Technology

XIA Yu^{1,2}, LI Hui², ZHANG Tong¹, WANG Pei^{1,2}

- 1. College of Resources and Environment, Southwest University/Interdisciplinary Research Center for Agriculture Green Development in Yangtze River Basin, Chongqing 400715, China;
- 2. College of Engineering and Technology, Southwest University/Chongqing Key Laboratory of Intelligent Agricultural Machinery Equipment for Hilly and Mountainous Regions, Chongqing 400715, China

收稿日期: 2024-05-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(32201651, 32001425); 中央高校基本科研业务费专项(SWU-KT22024); 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX0414, cstc2020jcyj-msxmX0459)。

作者简介: 夏宇,硕士研究生,主要从事植物保护研究。

通信作者: 王沛,博士,副教授。

Abstract: Weeds management in farmland has become a key link to improve crop yield and quality. Chlorophyll fluorescence imaging technology has been used for identification of herbicide stress on weeds because of its non-destructive monitoring, high sensitivity and rapid response capability. Studies have shown that soil water content could affect herbicide efficacy under herbicide stress. In this study, the changes of physiological indicators and QY_{\max} (maximum light quantum efficiency after dark adaptation) under the stress of three common herbicides (atrazine, bensulfuron, and grasshopper) and five different soil water content (5.8%, 11.6%, 17.4%, 23.2%, and 29.0%) treatments on *Amaranth retroflexus* were analyzed. The results showed that atrazine and bensulfuron presented significant efficacy on *A. retroflexus*. Compared to the blank control, there was no difference in physiological indicators and QY_{\max} of plants under atrazine stress with different soil water contents. The effect of atrazine stress on the plants at 5.8% soil water content had a lag in QY_{\max} compared with the blank control, while the plants showed early resistance and late sensitivity in QY_{\max} under bensulfuron stress. This study revealed that fluorescence response pattern of *A. retroflexus* is varied to different herbicides under different soil water contents, which is beneficial for better utilizing chlorophyll fluorescence imaging technology to control weeds in farmland.

Key words: Amaranthus retroflexus; chlorophyll fluorescence imaging; soil water content; fluorescence information parameters

杂草防控是作物田间管理的重要环节,化学除草剂由于其高效、快速、经济等特点被广泛用于农业生产的除草作业中。近年来,在全球范围内,由于长期大规模使用单一或作用机制相同的除草剂,大量杂草种群主要通过改变功能蛋白质结构或增强对除草剂的代谢能力等多种机制形成了针对不同除草剂的抗药性^[1]。为了提升杂草治理的科学性与精准度,科学地选择除草剂类型,减少无效施药作业,针对除草剂药效检测技术的研究显得尤为重要^[2]。除草剂药效的检测技术主要包括生物测定技术、分子生物学技术以及生理生化技术等^[3]。在作物发芽初期,除草剂的应用时机受到限制,导致可供执行施药的时间窗口相当有限,这一局限性对于除草剂药效评估的时效性提出了较高的标准。

叶绿素荧光检测被广泛应用于植物受到高温、低温、干旱、缺素、弱光、盐渍等胁迫以及不同施肥条件的研究中^[4-6]。近年来,由于其非破坏性、高灵敏度和快速响应的优势,叶绿素荧光成像技术在除草剂对植物光合作用特性影响的研究领域已逐步得到应用^[7]。具体而言,该技术在暗环境下利用特定波段光源照射经除草剂处理的杂草叶片,随后采用多通道叶绿素荧光光谱仪测量叶片中叶绿素发射的瞬时光合作用释放荧光的强度,以此来分析除草剂的药效情况。一般抗性植株叶片表面的荧光强度小,敏感性生物型叶片表面的荧光强度大^[4]。

除草剂对杂草的作用效果是其自身毒力和环境因素综合作用的结果。田间环境因素不仅可以影响作物的生长,还可以通过多种途径影响杂草防控过程中除草剂药效的发挥^[8]。针对田间杂草防控的药效评估,Wang等^[9]设计研发出一种可应用于田间与温室环境的叶绿素荧光成像检测系统,可以通过植物光系统 II 的最大光量子效率(QY_{max})的比较来识别不同物种和不同自然生物类型的抗除草剂杂草。然而,该研究结果受到土壤含水量、温度等环境因素制约,在不控制环境变量的条件下,检测结果会受到不同程度的影响,而土壤含水量显著影响除草剂对杂草的防控效果。在土壤水分充足的条件下,作物和杂草生长旺盛,有利于杂草对除草剂的吸收和内部传导,从而提高除草效果。相反,土壤干旱不仅抑制作物和杂草的生长,减弱作物对药剂的分解能力,还可能导致杂草形成较厚的角质层,减少药剂吸收,并因气孔关闭和根系发达而增加防除难度^[10-11]。在针对水分状况以及除草剂对紫色莎草防治效果影响的研

究中发现,缺水胁迫在影响紫草块茎的数量和生物量的同时,也影响了除草剂的效率[12]。在针对地肤杂 草的研究中也出现了类似的结论: 在较低的土壤水势下, 丙炔氟草胺和茚嗪氟草胺对植物毒性显著降 低[13]。目前大量研究表明,土壤含水量对除草剂的杂草防控效果具有显著的影响,因此土壤含水量是除 草剂药效检测过程中需要重点考虑的因素。

反枝苋是一种分布于中国多地的农田杂草,对湿润、干旱等不同的农田与草原环境展现出极高的表 型可塑性和基因变异能力,造成了严重的生态影响[14-15]。反枝苋能在多种农作物中混生,阻碍通风,消 耗养分,抑制作物生长,降低作物产量。此外,反枝苋还能污染种子,并作为多种病虫害的寄主,进一步 加剧了对农业生态的破坏[16]。鉴于反枝苋对农业生产带来的高危害性,本研究采用反枝苋作为供试杂 草开展试验工作。

综上所述,目前利用叶绿素荧光成像技术进行的除草剂药效检测模型,没有充分考虑到田间土壤含水 量因素对除草剂药效的影响。因此,本研究针对3种不同作业模式的除草剂在不同土壤含水量下对反枝苋 呈现的防控效果,研究不同作用模式除草剂对反枝苋的 QY_{max} 带来的差异化影响,分析不同土壤含水量情 形下除草剂胁迫呈现的结果和内在原因,以期为基于叶绿素荧光的除草剂药效检测模型校正提供理论基 础,进而指导当季除草剂施用类型的合理选择。

材料与方法 1

1.1 试验设计

反枝苋种子采集干江西省赣州市会昌县,2022年12月至2023年8月,在西南大学温室大棚里对反 枝苋种子进行萌发处理,利用 15 cm×20 cm 的多孔托盘铺满蛭石(灵寿县艺川矿产品加工厂,颗粒大小 为 $3\sim6$ mm)进行种子萌发。当种子萌发至两叶一心时,将幼苗移栽到 6.5 cm $\times6.5$ cm $\times7.5$ cm 育苗盆 (4 株/盆)中,填充 40 g有机营养土(史丹利农业集团股份有限公司,有机质≥60%)。植株在 16 h 光照 时长和 8 h 黑暗时长的光循环中生长, 温度保持在 $25 \, \mathbb{C}$ 。所有的育苗盆都被放置在一个完整的随机区块 设计中,有4个区块。试验土壤的最大持水量由环刀法测得为290g/kg。移栽后的供试杂草被分为5组, 分别对应 5 个不同的土壤含水量:保持土壤最大持水量 20%、保持土壤最大持水量 40%、保持土壤最大持 水量 60%、保持土壤最大持水量 80%、保持土壤最大持水量 100%,通过每天浇灌不同的水量来控制土壤 水分,如表1所示。在供试杂草三叶一心时期,选用3种具有不同作用模式的除草剂,依照推荐使用剂量处 理操作,如表2所示,所有试验处理拥有3个重复。除草剂喷施试验处理通过实验室喷雾试验平台(图1)实 现,平台滑轨处安装1个高压雾化喷头,喷头通过气泵提供压力(0.3 Mpa)实现除草剂的均匀喷施,喷施范 围呈扇形,流量为 0.84 L/min,利用定速滑轨实现喷头的均匀移动,在育苗盆表面以上 50 cm 处进行喷施 操作。空白对照处理用清水也进行相同操作。该试验于2023年2月至3月以及7月至8月在西南大学重复 了2次,对2个试验的数据取平均值。

表1 不同土壤含水量处理					
土壤持水量/%	实际土壤含水量/%	每天实际浇水量/mL			
20	5.8	2. 32			
40	11.6	4.64			
60	17.4	6.96			
80	23. 2	9. 28			
100	29.0	11.60			

	•			
除草剂	作用模式	施药剂量	有效成分含量	生产公司
莠去津	抑制光合作用 Ⅱ 系统(PSII)	2 mL/L	38%	山东侨昌现代农业有限公司
苯磺隆	抑制乙酰乳酸合成酶(ALS)	0.15 g/L	10 %	山东侨昌现代农业有限公司
禾草灵	抑制脂肪酸合成酶(ACCase)	1 mL/L	69 g/L	拜耳作物科学(中国)有限公司
空白对照	清水	_	_	_

表 2 供试药剂及其详细信息

1.2 评价指标

在整个试验阶段结束后,利用 AL204 电子天平(梅特勒—托利多仪器有限公司,0.000 1 g 精度)测量反枝苋根上部茎叶的鲜质量与干质量。测量干质量之前,将受试反枝苋利用电热鼓风干燥箱(GZX-9023MBE,干燥温度最高 200 \mathbb{C})进行烘干处理,温度控制在 $105 \mathbb{C} \pm 1 \mathbb{C}$,烘干 $12 \mathbb{h}$.

叶绿素荧光检测采用 FluorCam 大型植物多 光谱荧光成像平台(图 2), 系统由 LED 激发光源、 CCD 荧光成像镜头及滤波轮等集成于一个高度可 上下自由移动的成像平台上。标配 620 nm 红色光 源、冷白光双色光化学光源与 735 nm 红外光源, LED 光源板面积为 750 mm×750 mm。高分辨率 CCD 相机图像分辨率为 1 360×1 024 像素,在最 高图像分辨率下可达每秒 20 帧,采用动态视频模 式来测量叶绿素荧光参数,具备7位滤波轮及相 应的滤波器。使用 FluorCam 7 软件去除背景噪 声,该软件还用于控制光源类型和相机灵敏度,并 可以作为荧光参数数据处理中心和荧光图像发生 器。荧光图像将在该软件中进行初步处理,成像预 处理可以自动选区或手动选择不同形状、不同数 量以及不同位置的区域(Region of Interest, ROI),依据样品荧光的强弱,给成像图添加相应 的颜色。彩标刻度采用软件中的可见光光谱彩标 (Extended Spectrum)。计算得到的各项荧光参数, 具备"信号计算再平均"模式和"信号平均再计算"



图 1 喷雾试验平台



图 2 FluorCam 大型植物多光谱荧光成像平台

模式,在高信噪比的情况下选用"信号计算再平均"模式,在低信噪比的情况下选择"信号平均再计算"模式。本研究主要利用反枝苋研究除草剂胁迫的情况,会出现生理状态较差、荧光现象较弱并且图像噪点较多的情况。为了避免荧光参数过低导致背景噪声过大的情况,选用"信号平均再计算"模式来过滤噪声带来的误差。

试验前期,利用未受到胁迫、生长良好的反枝苋进行预试验,结果表明在最大饱和光强 30% 及以上的脉冲作用下,空白对照样本的 QY_{max} 稳定在 0.79 左右,已达到饱和点,由此确定正式试验的饱和光强。其他相关参数根据设定要求如表 3 所示。本研究假设所选传感器可以检测土壤含水量的单因素胁迫(即使可

能存在其他非生物胁迫)。在施药后的 $1\sim7$ d,利用叶绿素荧光成像系统检测反枝苋的光合作用情况以及叶绿素荧光图像,在每个测量日期的上午 $9\sim12$ 点进行测量。叶绿素荧光成像检测前进行暗适应处理,利用遮光布使供试杂草在黑暗环境中处理 30~min。

参数名称	数值设定	注释
Act1	100%	光化光源
Super	30 %	饱和光强
Act2	20 %	光化光源
FAR	20 %	远红光光源
EI. Shutter	20 μs	快门
Sensitivity	10 %	相机灵敏度

表 3 荧光成像系统相关参数设定

采用 FluorCam 传感器检测的反枝苋 QY_{max} 进行数据分析。 QY_{max} 表示光系统 \blacksquare 吸收的光能用于还原原初电子受体 QA 的最大效率,被视作评估植物健康状况的关键指标 $\llbracket 17 \rrbracket$,即 F_v/F_m 。 F_v 为 F_m-F_o , F_o 作为暗适应条件下所呈现出的最小荧光,亦被称作初始荧光,其能够表征 QA 处于最大氧化状态;而 F_m 则是暗适应条件下的最大荧光,可体现 QA 处于最大还原状态。非胁迫条件下 QY_{max} 的变化极小,不受物种和生长条件的影响,但在胁迫条件下该参数明显下降。

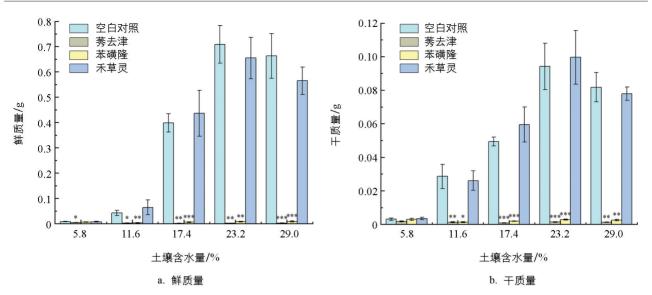
1.3 数据分析

使用 R v4. 3. 0、SPSS 26 和 Origin 2021 软件对数据进行分析和绘图,以此来确定不同除草剂处理是否显著影响反枝苋的生理状况,并研究在除草剂胁迫和不同土壤含水量条件下,反枝苋叶绿素荧光参数值是否可以区分。方差分析显示重复试验之间没有显著性差异(p>0.05),因此所有重复试验的数据均被收集。为了对除草剂胁迫与空白对照之间的差异进行比较,对鲜质量、干质量进行独立样本 t 检验;为了对除草剂变量胁迫下的差异进行比较,对除草剂单因素影响的结果进行 ANOVA 检验(p<0.05);为了分析时间和土壤含水量这2个因素对 QY_{max} 产生的影响,对多因素影响的结果进行方差分析和事后 LSD 检验(p<0.05)。

2 结果与分析

2.1 生理指标

如图 3 所示,在 11.6%、17.4%、23.2%、29.0%的土壤含水量条件下,以及莠去津和苯磺隆胁迫下,反枝苋的鲜质量与干质量都显著低于空白对照组;在 5.8%的土壤含水量条件下,以及莠去津胁迫下,反枝苋的鲜质量显著低于空白对照组,反枝苋干质量和空白对照组未体现显著性差异;在 5.8%的土壤含水量条件下,苯磺隆胁迫的反枝苋鲜质量与干质量相较于空白对照组,未体现出显著性差异。禾草灵胁迫下,反枝苋的鲜质量与干质量在所有土壤含水量条件下相较于空白对照组,未体现出显著性差异。在测定除草剂效果时,鲜质量的测量比干质量更具参考价值,因为即便是新近死亡或已坏死的植物,其干质量可能与健康、绿色的植株持平[18]。由反枝苋鲜质量与干质量的测定结果可以得出,莠去津处理和苯磺隆处理显著抑制了反枝苋正常的生长,而禾草灵处理对反枝苋的生长活动并无显著影响。可以认为莠去津和苯磺隆处理显著抑制了反枝苋的生丧、而禾草灵处理对反枝苋的生长活动并无显著影响。可以认为莠去津和苯磺隆2种除草剂明显抑制了反枝苋的生理状况,其中莠去津的效果比苯磺隆更大。但是在 5.8%的土壤含水量条件下,由于极低的土壤水分影响了空白对照组中反枝苋的正常生理活动,可能会使反枝苋的物质累积进程衰减至与受莠去津和苯磺隆抑制后相仿的状况。禾草灵处理的药效对反枝苋不明显。根据反枝苋鲜质量与干质量的数据可知,反枝苋在 23.2%的土壤含水量下生长状况最好,在 29.0%、17.4%、11.6%、5.8%的土壤含水量条件下依次变差(图 4)。



独立样本 t 检验,用星号表示每个土壤含水量中各处理与空白对照的显著性差异:p<0.001 为"***",0.001 \leqslant p<0.01 为"**",0.01 \leqslant p<0.05 为"*"。

 空白对照
 莠去津
 苯磺隆
 禾草灵

 5.8%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%
 11.6%</

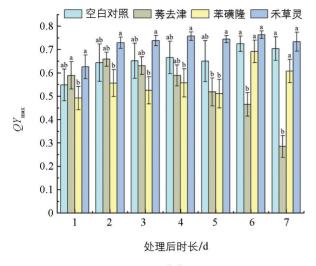
图 3 反枝苋的鲜质量、干质量的平均值和标准偏差

图 4 称质量前反枝苋的生长情况

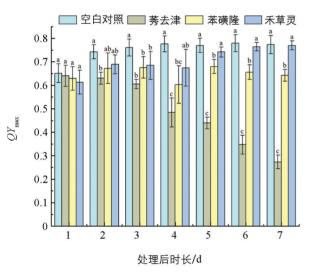
2.2 除草剂单因素分析

根据图 5f 的单因素方差分析结果表明,莠去津和苯磺隆胁迫下,反枝苋的 QY_{max} 在处理 1 d 之后被显著抑制,并且莠去津的影响比苯磺隆更为显著。这种影响随时间的增加而变强,并在 4 d 时,莠去津和苯磺隆之间也产生了显著性差异,这说明莠去津对反枝苋 QY_{max} 的影响更为剧烈。禾草灵的胁迫在 7 d 内,对反枝苋的 QY_{max} 没有显著性的影响。空白对照条件和禾草灵胁迫下,反枝苋的 QY_{max} 先逐渐上升,之后趋于稳定;莠去津和苯磺隆胁迫下,反枝苋的 QY_{max} 逐渐下降,并且反枝苋 QY_{max} 的下降幅度,

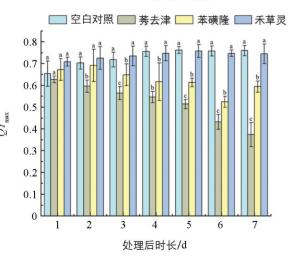
在莠去津胁迫下的要大于苯磺隆胁迫下的。



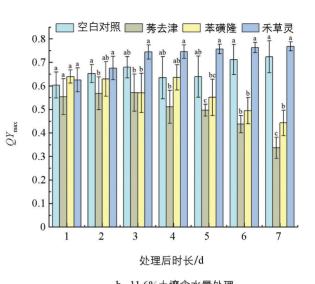
a. 5.8%土壤含水量处理



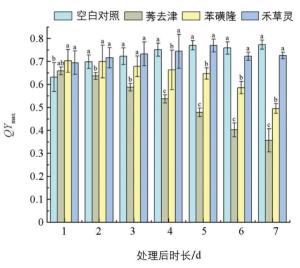
c. 17.4%土壤含水量处理



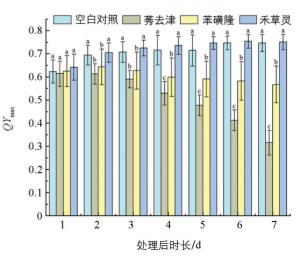
e. 29.0%土壤含水量处理



b. 11.6%土壤含水量处理



d. 23.2%土壤含水量处理



f. 全部土壤含水量处理

不同处理之间 QY_{max} 的显著性差异用不同的小写字母表示(p < 0.05)。

图 5 不同土壤含水量处理下不同除草剂胁迫对反枝苋 QY_{max} 的影响随时间的变化

图 5c、5d、5e 的试验结果显示,此 3 组处理在显著性差异的表达及变化趋势方面,与图 5f 所得结果具有相似性。由图 5b 的结果可知,在苯磺隆胁迫下,反枝苋的 QY_{max} 呈现出不显著的下降态势;而在禾草灵胁迫下,反枝苋的 QY_{max} 于 2~4 d 内与空白对照组相比呈现出显著性差异。根据图 5a 的结果显示,在莠去津胁迫下,反枝苋的 QY_{max} 直至 5 d 才与空白对照组呈现出显著性差异;在 1~4 d 内,空白对照组及莠去津胁迫下反枝苋的 QY_{max} 相对于苯磺隆胁迫下反枝苋的 QY_{max} 呈现出显著性差异;并且苯磺隆胁迫下反枝苋的 QY_{max} 并非如图 5f 的结果一样呈下降趋势,而是呈现出无规律的波动状态。图 5a 与图 5b 的结果可能是因较低的土壤含水量干扰了反枝苋的正常生理活动,进而导致莠去津和苯磺隆对反枝苋的 QY_{max} 产生抑制效应,相较于其他土壤含水量(17.4%, 23.2%, 29.0%)处理呈现出滞后特性。

2.3 多因素分析

由 2.1 节和 2.2 节的结果可知,禾草灵对反枝苋的鲜质量、干质量和 QY_{max} 没有显著影响,因此不讨论禾草灵胁迫下时间和土壤含水量对反枝苋 QY_{max} 的交互作用影响。通过分析莠去津和苯磺隆胁迫下时间和土壤含水量对反枝苋 QY_{max} 的交互作用影响,可以更好地探究不同土壤含水量下反枝苋受除草剂胁迫时 QY_{max} 在时间尺度上的变化规律。

方差分析结果提供了充分的统计证据,在莠去津和苯磺隆胁迫下,土壤含水量和时间对反枝苋的 QY_{\max} 有显著影响,如表 4 和表 5 所示。事后分析结果表明:莠去津胁迫下,5.8%土壤含水量处理的 反枝苋 QY_{\max} 最大,为 0.5319;17.4%土壤含水量处理的反枝苋 QY_{\max} 最小,为 0.4792。苯磺隆胁 迫下,17.4%土壤含水量处理的反枝苋 QY_{\max} 最小,为 0.6494;5.8%土壤含水量处理的反枝苋 QY_{\max} 最小,为 0.5551。

差异源	自由度	平方和	均方	F 值	p 值
重复测量组	15	0.144 3	0.009 62	1.175 5	0.286 813 6
土壤含水量	4	0.204 6	0.051 15	6.2517	6. $457 \times 10^{-5 * * *}$
处理后时长	6	6.121 6	1.020 26	124.699 8	$<2.2\times10^{-16***}$
土壤含水量与处理后时长	24	0.430 9	0.017 95	2.1942	0.000 998 6***
残差	510	4.1727	0.008 18	_	_

表 4 莠去津方差分析表

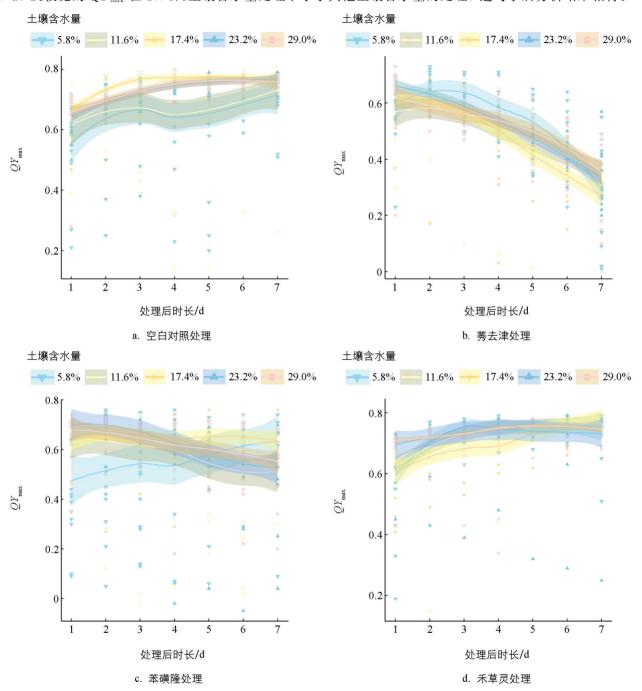
注: * p<0.05, * * p<0.01, * * * p<0.001 表示差异具有统计学意义。下同。

差异源	自由度	平方和	均方	F 值	₽值
重复测量组	15	0.479 6	0.031 975	1.481 2	0.107 20
土壤含水量	4	0.6519	0.162 978	7.5498	6.495 \times 10 ^{-6 * * *}
处理后时长	6	0.3598	0.059 966	2.777 9	0.011 47*
土壤含水量与处理后时长	24	1.408 2	0.058 674	2.718 0	$2.639 \times 10^{-5***}$
残差	510	11.009 4	0.021 587	_	

表 5 苯磺隆方差分析表

莠去津胁迫下时间和土壤含水量对反枝苋 QY_{max} 产生影响的双因素交互作用的 p 值为 0.000 998 6,小于 $\alpha(0.05)$,有 95%的统计置信度,可以证明时间和土壤含水量的相互作用会影响莠去津胁迫下反枝苋的 QY_{max} 。后置 LSD 检验结果表明:7 d 时,17.4%土壤含水量处理下反枝苋的 QY_{max} 最小,平均为 0.271 3; 1 d 时,反枝苋的 QY_{max} 在 23.2%土壤含水量处理下最大,平均为 0.658 8。由图 6b 可知:在除草剂胁迫后

的 $2\sim5$ d, 反枝苋的 QY_{max} 在 5.8%土壤含水量处理下大于其他土壤含水量的处理; 在除草剂胁迫后的 $4\sim7$ d, 反枝苋的 QY_{max} 在 17.4%土壤含水量处理下小于其他土壤含水量的处理, 这与事后分析结果相符。



阴影部分为各组拟合曲线的置信区间。

图 6 不同处理下不同土壤含水量对反枝苋 QY_{max} 的影响随时间的变化

苯磺隆胁迫下时间和土壤含水量对反枝苋 QY_{max} 产生影响的双因素交互作用的 p 值为 2.639×10^{-5} ,小于 $\alpha(0.05)$,有 95%的统计置信度,可以证明时间和土壤含水量的相互作用会影响苯磺隆胁迫下反枝苋的 QY_{max} 。后置 LSD 检验结果表明:1 d 时,反枝苋的 QY_{max} 在 5.8% 土壤含水量处理下最小,平均为 0.475 0;2 d 时,反枝苋的 QY_{max} 在 23.2% 土壤含水量处理下最大,平均为 0.701 3。由图 6c 可知,在除草剂胁迫后的 $1\sim4$ d,反枝苋的 QY_{max} 在 5.8% 土壤含水量处理下小于其他土壤含水量处理,但呈升高的趋势,反枝苋的 QY_{max} 在 11.6%、17.4%、23.2%、29.0% 土壤含水量处理下呈降低趋势。

由图 6a 可知,在空白对照条件下,较低土壤含水量处理的反枝苋 QY_{max} 低于较高土壤含水量处理的反枝苋 QY_{max} ,且呈现出缓慢递增的趋势。基于莠去津与苯磺隆对反枝苋 QY_{max} 的影响结果,并与空白对照进行对比分析,可得出:莠去津对反枝苋 QY_{max} 的抑制效能显著强于苯磺隆;在较低的土壤含水量(5.8%土壤含水量)条件下,莠去津与苯磺隆对反枝苋 QY_{max} 的抑制效应呈现出较为迟缓的态势;在适宜的土壤含水量条件下(17.4%土壤含水量),莠去津对反枝苋 QY_{max} 呈现出最为显著的抑制效果。

3 讨论与结论

3.1 讨论

本研究测定试验后的反枝苋鲜质量与干质量,得出如下结果:在5.8%土壤含水量处理时,空白对照组反枝苋的干质量与莠去津、苯磺隆处理组反枝苋的干质量未呈现出显著性差异;而当土壤含水量为11.6%、17.4%、23.2%、29.0%进行处理时,空白对照组与莠去津、苯磺隆处理组之间则具有显著性差异(图7)。可以认为,在土壤含水量为5.8%的条件下,莠去津与苯磺隆对反枝苋的抑制作用极为微弱,甚至可视为无明显影响,这和前人研究发现的随着土壤湿度的降低,PRE除草剂对地肤杂草的药效显著降低的结果是相似的[13]。因此,本研究聚焦于土壤含水量对除草剂胁迫下反枝苋荧光参数变化的影响,其具备坚实的生理依据支撑。

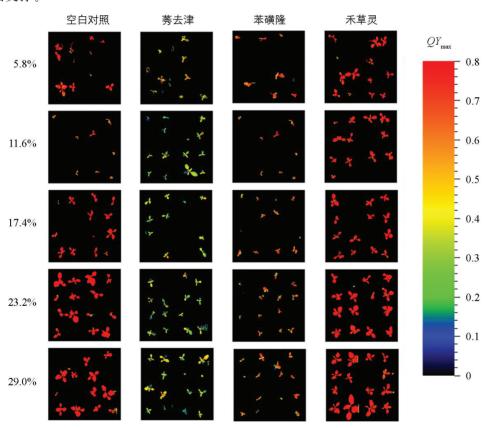


图 7 反枝苋 QY_{max} 荧光图像

光合作用主要包括原初反应、电子传递和碳同化 3 个过程。光系统 Π (PSII)的反应中心色素 P680 在光激发下产生强氧化作用,促进水分子氧化,启动电子传递链,电子依次通过多个受体最终传递至光系统 Π (PSI)。PSI 的反应中心 P700 在光激发下迅速传递电子至 NADP⁺,完成电子的传递。此外,PSII 的 Π (PSI)。PSI 的反应中心 P700 在光激发下迅速传递电子至 NADP⁺,完成电子的传递。此外,PSII 的 Π (PSI) 的 Π (PSII) 的

至死亡^[19]。试验结果中,经莠去津胁迫的反枝苋 QY_{\max} 与其余 3 组处理(空白对照、苯磺隆、禾草灵)相较,呈现出显著性差异,这与前人研究的结果一致,莠去津总能显著地影响植物的 QY_{\max} [20-21]。

在光合作用中,PSII 通过吸收光能裂解水分子,释放电子至质体醌,并通过水氧化及 PQB。的还原,在类囊体膜两侧形成 H⁺质子梯度。水的充足与否是电子传递的关键,缺水会减慢水氧化,减少电子产生,影响 QA 的还原,进而影响 QY_{\max} 。莠去津通过替代质体醌结合电子,影响光合作用,其效率在缺水时比水充足时低,对还原 QA 的影响也相对较弱^[22]。本研究中,莠去津胁迫且处于 5.8% 土壤含水量处理下的反枝苋 QY_{\max} 最低,此结果为上述论证提供了有力佐证。而且随着时间和土壤含水量 2 个因素的交互影响,尽管反枝苋的 QY_{\max} 整体呈下降趋势,然而在 5.8% 土壤含水量处理下,反枝苋的 QY_{\max} 始终相较其他土壤含水量处理略高。学者指出,土壤水分胁迫降低了光合结构遭受破坏的风险^[23],恰是土壤水分与除草剂的协同作用,致使 5.8% 土壤含水量处理下受莠去津胁迫的反枝苋 QY_{\max} 相较于其他土壤含水量处理下呈现出滞后特性。关于在 17.4% 土壤含水量处理下比其他土壤含水量处理下的反枝苋 QY_{\max} 较低,是由于当水分已经足够支撑光合作用中的电子传递时,更多或更少的水分并不能显著改变电子产生的速率,也就无法影响电子传递过程的速率。当电子传递过程的效率不是决定因素时,那更适宜的生长环境更能使除草剂发挥作用。前人研究发现,莠去津在适中的土壤湿度条件下,除草剂 IC50 值要更低,诱导调亡能力更强,这和本研究的结果相符^[24]。

苯磺隆属于一种选择性内吸式传导除草剂,其可经杂草的根与叶进行吸收,进而在杂草体内实现传导扩散。它通过结合并抑制乙酰乳酸合成酶的活性,阻断杂草体内 3 种支链氨基酸的合成,影响蛋白质和 DNA 的生成,导致杂草有丝分裂受阻,最终停止生长并死亡 $^{[18]}$ 。研究结果表明,在苯磺隆胁迫下,反枝苋的 QY_{max} 数值与空白对照相比,亦呈现出显著性差异。由上文可知, QY_{max} 表示 PSII 吸收光能用于 QA 还原的最大效率。PSII 包括 2 个捕光复合物 LHCII(由数百个叶绿素和类胡萝卜素分子组成)和 1 个光反应中心。PSII 的功能也依赖于其他蛋白质,如反应中心色素蛋白复合体和外周蛋白。苯磺隆通过抑制蛋白质合成,影响这些组成物质的合成,从而降低 PSII 还原 QA 的效率,致使苯磺隆胁迫下反枝苋的 QY_{max} 显著低于空白对照组的相应数值 $[^{25]}$ 。但是又因为苯磺隆抑制蛋白质的合成,却不影响已经生成的蛋白质,所以导致了苯磺隆对 PSII 系统正常运转的抑制效果弱于莠去津,因此在研究中,苯磺隆胁迫下反枝苋的 QY_{max} 显著高于莠去津胁迫下的数值。

在研究结果中,反枝苋的 QY_{max} 在苯磺隆胁迫下虽整体数值显著低于空白对照组,但是整体下降趋势不明显,在 5.8% 土壤含水量处理下,反枝苋的 QY_{max} 呈现出上升态势。脱氧核糖核酸(DNA)是由许多核苷酸单体聚合成的生物大分子化合物,而核苷酸合成核酸的时候需要消耗水。当苯磺隆抑制蛋白质和 DNA 的合成时,本该用于消耗这部分的水分,就会转移到其他生理过程中。可以认为,5.8% 土壤含水量处理的苯磺隆胁迫下,本该用于合成蛋白质和 DNA 的水分被用来参与到 PSII 系统的电子传递反应中,因此反枝苋的 QY_{max} 呈现逐渐上升的趋势。而 11.6%、17.4%、23.2%、29.0%的土壤含水量处理由于有充足的水分,从一开始就有足够的水分去支持 PSII 系统的电子传递反应,因此在苯磺隆胁迫下,反枝苋前期的 QY_{max} 高于在 5.8% 土壤含水量处理下反枝苋的 QY_{max} 。但是由于没有后续的蛋白质合成,还原QA 的最大效率还是缓慢降低。前人研究证明了,对于同为草本植物的水稻,干旱诱导的支链氨基酸转氨酶(OsDIAT)介导水稻中支链氨基酸的积累以应对干旱胁迫,表明了支链氨基酸氨基转移酶的作用[26],此情形与苯磺隆胁迫低土壤含水量处理下对反枝苋 QY_{max} 的影响结果具有相似性。苯磺隆影响氨基酸的合成,并不影响其转移,使较低的土壤含水量(5.8%)处理下的反枝苋 QY_{max} 在受抑制的结果中表达出抗性。

禾草灵属于脂肪酸合成酶抑制剂范畴,其主要应用于禾本科杂草的防治,对阔叶杂草并无药效。试验结果亦呈现出相似情形:经禾草灵胁迫后,反枝苋的鲜质量、干质量以及 QY_{max} 与空白对照处理相较而言,

未出现显著差异。此现象是由反枝苋自身的杂草种类特性所主导的。

综上所述,莠去津与苯磺隆的胁迫对反枝苋的 QY_{max} 产生显著影响。与适宜土壤含水量条件相比,在低土壤含水量(5.8%)的情形下,莠去津和苯磺隆的胁迫作用呈现出微弱且迟缓的特征。在后续的研究与应用过程中,可通过对比不同土壤含水量下杂草受除草剂胁迫后的 QY_{max} ,以此实现对除草剂药效的分析与判定。

3.2 结论

- 1)本研究证明了土壤含水量的不同可以明显地影响除草剂对反枝苋的药效,这种对药效的影响可以通过叶绿素荧光参数 QY_{max} 的变化呈现出来。
- 2)本研究探究了不同土壤含水量条件下不同作用模式除草剂对反枝苋荧光参数 QY_{max} 的不同影响:较低的土壤含水量(5.8%)会延缓莠去津和苯磺隆的抑制作用。叶绿素荧光成像技术可以反映出受除草剂胁迫以及不同土壤含水量情况下,反枝苋荧光参数的响应特征,并能清晰地观察到整个反枝苋受损程度的变化过程,在农田杂草防控中具有一定的应用潜力。

参考文献:

- [1] CESCO V J S, KRENCHINSKI F H, RODRIGUES D M, et al. Glyphosate Hormesis Effects on the Vegetative and Reproductive Development of Glyphosate-Susceptible and -Resistant Conyza Sumatrensis Biotypes [J]. Environmental Pollution, 2024, 345: 123504.
- [2] RENTON M, BUSI R, NEVE P, et al. Herbicide Resistance Modelling: Past, Present and Future [J]. Pest Management Science, 2014, 70(9): 1394-1404.
- [3] PANOZZO S, SCARABEL L, COLLAVO A, et al. Protocols for Robust Herbicide Resistance Testing in Different Weed Species [J]. Journal of Visualized Experiments, 2015(101): e52923.
- [4] SZIGETI Z, RICHTER P, LICHTENTHALER H K. Fluorescence Emission Spectra of Paraquat Resistant Conyza Canadensis during the Chlorophyll Fluorescence Induction as Determined by the CCD-OMA System [J]. Journal of Plant Physiology, 1996, 148(5): 574-578.
- [5] ANDRZEJOWSKA A, HÁJEK J, PUHOVKIN A, et al. Freezing Temperature Effects on Photosystem II in Antarctic Lichens Evaluated by Chlorophyll Fluorescence [J]. Journal of Plant Physiology, 2024, 294: 154192.
- [6] BU J Y, GAN G J, CHEN J H, et al. Dryland Evapotranspiration from Remote Sensing Solar-Induced Chlorophyll Fluorescence: Constraining an Optimal Stomatal Model within a Two-Source Energy Balance Model [J]. Remote Sensing of Environment, 2024, 303; 113999.
- [7] LÁZÁR D, TAKÁCS E, MÖRTL M, et al. Application of a Fluorescence-Based Instrument Prototype for Chlorophyll Measurements and Its Utility in an Herbicide Algal Ecotoxicity Assay [J]. Water, 2023, 15(10): 1866.
- [8] HARRE N T, YOUNG J M, YOUNG B G. Environmental Factors Moderate Glyphosate-Induced Antagonism of POST Herbicides on the Rapid Response Biotype of Glyphosate-Resistant Giant Ragweed (*Ambrosia trifida*) [J]. Weed Science, 2018, 66(3): 301-309.
- [9] WANG P, PETEINATOS G, LI H, et al. Rapid Monitoring of Herbicide-Resistant Alopecurus Myosuroides Huds. Using Chlorophyll Fluorescence Imaging Technology [J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 2018, 125(2): 187-195.
- [10] 石家兴,陈申宽. 大豆田杂草反枝苋的危害情况调查与治理对策 [J]. 呼伦贝尔学院学报, 2022, 30(1): 119-122.
- [11] 王月. 影响除草剂药效的因素及注意事项 [J]. 现代农业, 2019(3): 38-39.
- [12] LE D, MORELL M. Influence of Water Regimes and Herbicides for Control of Purple Nutsedge (*Cyperus rotundus*)

 [J]. Advances in Weed Science, 2021, 39: e20210085.

- [13] SEBASTIAN D J, NISSEN S J, WESTRA P, et al. Influence of Soil Properties and Soil Moisture on the Efficacy of Indaziflam and Flumioxazin on Kochia Scoparia L [J]. Pest Management Science, 2017, 73(2): 444-451.
- [14] 魏莹, 李倩, 李阳, 等. 外来入侵植物反枝苋的研究进展[J]. 生态学杂志, 2020, 39(1): 282-291.
- [15] XU H, XIANG N, DU W, et al. Genetic Variation and Structure of Complete Chloroplast Genome in Alien Monoecious and Dioecious Amaranthus Weeds [J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 8255.
- [16] 焦健, 舒锐, 周慧, 等. 菜园杂草反枝苋的危害与防治 [J]. 中国果菜, 2016, 36(12): 59-60.
- [17] BAKER N R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis *in vivo* [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 89-113.
- [18] 卢向阳. 除草剂对植物抑制作用的定量指标 [J]. 植物保护, 1992, 18(6): 42-43.
- 「19] 黄新发. 除草剂靶标乙酰乳酸合成酶对抑制剂敏感性及其分子机理的初步研究「D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [20] SHER A, MUDASSIR MAQBOOL M, IQBAL J, et al. The Growth, Physiological and Biochemical Response of Foxtail Millet to Atrazine Herbicide [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2021, 28(11): 6471-6479.
- [21] 苏旺苍,孙兰兰,吴仁海,等.叶绿素荧光在大豆莠去津药害早期诊断中的应用[J].河南农业科学,2015,44(2):82-86.
- [22] 吕亚,张祖兵,任保兰,等.水分胁迫对辣木苗期生长及叶绿素荧光特性的影响[J].云南农业大学学报(自然科学), 2019,34(3):503-508.
- [23] 耿东梅,单立山,李毅,等. 土壤水分胁迫对红砂幼苗叶绿素荧光和抗氧化酶活性的影响 [J]. 植物学报,2014,49(3):282-291.
- [24] 郭怡卿,张付斗. 土壤湿度对土壤处理除草剂药效的影响研究 [J]. 西南农业学报,2003,16(4):77-81.
- [25] 高贞攀, 郭平毅, 原向阳, 等. 苯磺隆和单嘧磺隆对张杂谷 10 号光合特性及产量构成的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2015, 20(6): 36-45.
- [26] SHIM J S, JEONG H I, BANG S W, et al. DROUGHT-INDUCED BRANCHED-CHAIN AMINO ACID AMIN-OTRANSFERASE Enhances Drought Tolerance in Rice [J]. Plant Physiology, 2023, 191(2): 1435-1447.

责任编辑 柳剑