

# 添加不同基质对含四环素土壤玉米幼苗生理特性的影响

宋建丽, 秦俊梅, 熊华烨, 张健, 倪月

(山西农业大学资源环境学院, 山西农业大学农业资源与环境国家级实验教学示范中心, 山西 太谷 030801)

**摘要:** 为探究兽用四环素对玉米幼苗生理特性的影响, 通过玉米盆栽试验, 研究四环素外源污染胁迫下施用不同基质(单施蚯蚓粪、菌糠、菌剂、生物炭及其与菌剂配施)对玉米生长的影响。结果表明, 四环素对玉米生物量有明显的抑制作用, 其中对根长的抑制作用显著大于株高, 而添加不同基质均能缓解四环素对玉米株高和根长的抑制作用, 且 JK 和 JJ 处理效果最显著, 升幅分别为 17.29% 和 30.08%; 四环素显著诱导玉米 SOD 活性上升, 升幅为 3.34%, 抑制 CAT 和 POD 活性, 降幅分别为 10.98% 和 46.68%, 添加不同基质处理中, QY 处理对促进抗氧化酶系统平衡的效果最显著; 四环素会增加玉米脯氨酸、丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白及总黄酮含量, 添加不同基质处理中, 对其减少效果最显著的依次为 JK、JJ、QY、S 和 JK 处理, 降幅分别为 29.09%, 50.88%, 42.01%, 50.23% 和 35.79%; 相关性分析表明, 脯氨酸、丙二醛均与可溶性蛋白和总黄酮呈极显著正相关, POD 活性与可溶性糖、丙二醛与总黄酮相关性最强。综上所述, 添加不同基质可有效缓解四环素对玉米幼苗的毒害作用, 总趋势为 JK(菌糠)、JJ(菌糠+菌剂)和 QY(蚯蚓粪)处理效果较好。通过此研究, 可筛选有效减少四环素对植物生长影响的基质及其施用方式, 可为四环素对植物生理毒性的研究提供参考, 也可为抗生素对植物的风险评价提供科学依据。

**关键词:** 四环素; 不同基质; 玉米幼苗; 抗氧化酶系统; 抗性因子

**中图分类号:** S144.1; S513 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-2242(2019)02-0342-08

**DOI:** 10.13870/j.cnki.stbcxb.2019.02.052

## Effects of Different Substrates on Physiological Characteristics of Maize Seedlings in Tetracycline Soil

SONG Jianli, QIN Junmei, XIONG Huaye, ZHANG Jian, NI Yue

(College of Resources and Environment, National Experimental Teaching Demonstration Center of Agricultural Resources and Environment, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801)

**Abstract:** In order to explore the effects of veterinary tetracycline on physiological characteristics of maize seedlings, pot experiment was conducted to study the effects of different substrates (single application of worm cast, fungal chaff, microbial inoculum, biochar and its combined application with microbial inoculum) on growth of maize seedlings under the stress of exogenous tetracycline pollution. The results showed that tetracycline inhibited significantly the maize biomass, and its inhibitory effect on root length was significantly greater than that on plant height. The inhibitory effect of tetracycline on maize plant height and root length could be alleviated by adding different substrates, and the effect of JK (fungal chaff) and JJ (fungal chaff + microbial inoculum) treatment was the most significant, with the increase of 17.29% and 30.08%, respectively. Tetracycline significantly increased SOD activity in maize by 3.34%, and inhibited CAT and POD activity by 10.98% and 46.68%, respectively. Among the treatments with different substrates, QY (worm cast) treatment had the most significant effect on promoting antioxidant enzyme system balance. Tetracycline could increase the content of proline, malondialdehyde, soluble sugar, soluble protein and total flavonoids in maize, among the treatments with different substrates, JK, JJ, QY, S and JK treatments had the most significant reduction effects, the decline rates were 29.09%, 50.88%, 42.01%, 50.23% and 35.79%, respectively. Correlation analysis showed that proline and malondialdehyde both were extremely significantly positively correlated with soluble protein and total flavonoids, POD activity had the strongest correlation with soluble sugar, malondialdehyde had the strongest correlation with total flavonoids. In

收稿日期: 2018-09-28

资助项目: 山西省科技攻关项目(20140311008-4)

第一作者: 宋建丽(1995—), 女, 山西介休人, 在读硕士研究生, 主要从事土壤环境污染研究。E-mail: 1040231344@qq.com

通信作者: 秦俊梅(1974—), 女, 山西陵川人, 副教授, 硕士, 主要从事土壤环境污染研究。E-mail: sxaushr@163.com

conclusion, adding different substrates could effectively alleviate the toxic effect of tetracycline on maize seedlings. The general trend showed that JK, JJ and QY had the best effect. Through this study, we could select the best substrates and application methods which could effectively reduce the effects of tetracycline on plant growth, provide reference for the research of physiological toxicity of tetracycline to plants, and also provide scientific basis for the risk assessment of antibiotic on plants.

**Keywords:** tetracycline; different substrates; maize seedlings; antioxidant enzyme system; resistance factor

近年来抗生素以其良好的治疗效果和促进动物生长的能力而被广泛应用于畜禽养殖业<sup>[1]</sup>,抗生素大量使用引起的环境污染问题也日趋严重,据研究<sup>[2]</sup>报道,抗生素进入动物体内后极少被吸收,有超过 85% 的抗生素以原型或排泄产物的形式排出体外进入环境中。有研究<sup>[3]</sup>发现,四环素类抗生素尤其是四环素(Tetracycline, TC)是世界上使用最广泛的一种抗生素,其在动物体内消除缓慢、代谢率低,极易残留在土壤中,并通过根系吸收对植物产生毒害作用,最后通过食物链进入人体,严重威胁人体健康。因此,了解四环素对植物的生理毒害及探索有效减少四环素对植物影响的方法极为重要。Liu 等<sup>[4]</sup>采用无土栽培法研究四环素胁迫下生姜生长的响应和机制,结果表明生姜(*Zingiber officinale Roscoe*)在高浓度四环素污染环境 中生长明显受到抑制,四环素污染对光合作用、荧光参数、氧化物质及光合色素等生理指标均有负面影响;迟荪琳等<sup>[5]</sup>通过土培试验研究不同四环素类抗生素 TCs(四环素、土霉素和金霉素)对生菜(*Lactuca sativa L.*)和小白菜(*Brassica campestris L.*)生长的影响,结果表明四环素类抗生素总体上抑制了生菜的生长,但是增加了白菜的生物量,且在一定程度上增加了生菜和小白菜的气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ ),抑制了生菜的净光合速率( $P_n$ )。有研究<sup>[6-7]</sup>以小白菜为受试生物,探究四环素对小白菜幼苗生长发育的生态毒性,结果表明四环素对小白菜种子萌发、根(芽)伸长、可溶性蛋白及抗氧化酶系统均具有毒害作用,且随着四环素暴露时间的延长,对小白菜的生态毒性越显著;Ahmed 等<sup>[8]</sup>通过盆栽试验发现添加 5, 10, 20 mg/kg 的四环素类抗生素对黄瓜(*Cucumis sativus L.*)、番茄(*Lycopersicon esculentum Mill.*)和生菜的生长均受到明显的抑制作用;Xie 等<sup>[9]</sup>通过水培试验研究了四环素对小麦(*Triticum aestivum L.*)生长、抗氧化及遗传指标的影响,结果发现四环素对植物细胞具有潜在的生理、生化和遗传毒性,且发现丙二醛可能是四环素污染的敏感生物指示剂。还有研究者<sup>[10]</sup>探究了金霉素对松豆(*Phaseolus. garis*)和玉米(*Zea mays L.*)的毒性,发现在金霉素处理的土壤 中生长时,玉米植株中谷胱甘肽 S-转移酶和过氧化物酶活性显著增加,而松豆中

则没有。另外,有相关研究<sup>[11-12]</sup>发现,有机肥可作为吸附材料降低土壤中的四环素类抗生素的含量,徐秋桐等<sup>[11]</sup>以青菜为受试植物,发现当土壤中的土霉素含量超过 50 mg/kg 时,蔬菜根系的发育就会受到危害,且发现施用有机肥能促进土壤中抗生素的降解,并减少植物对抗生素的吸收;段曼莉<sup>[12]</sup>通过生菜盆栽试验,发现苹果树枝生物炭可降低土壤、生菜根和叶中土霉素的积累和转运。

目前,国内外已进行了大量关于四环素污染对植物生理影响方面的研究,但主要集中于对短周期蔬菜影响的研究,而对长周期作物的研究较少。此外,国内外关于通过某种基质减少四环素对植物影响的探索不少,但同时采用多种减少四环素对植物生长影响的基质筛选研究较为罕见。因此,本研究选择北方常见大田作物玉米作为试验材料,外源添加兽用四环素,探索添加不同基质(单施蚯蚓粪、菌糠、菌剂和生物炭及其与菌剂配施)对玉米幼苗期生物量、抗氧化酶系统及其他抗性因子等的影响,并对各因子之间的相关性做出分析,以更全面地探究四环素对植物的生理毒性,筛选有效减少四环素对植物影响的基质及其施用方式,同时为抗生素污染土壤中的农作物风险评估提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤 供试土壤采自山西省太谷县农田 0—20 cm 的耕层土壤,为石灰性褐土,土壤风干后过 2 mm 和 1 mm 筛,分别用于玉米盆栽试验和土壤基本理化性质的测定。供试土壤的基本理化性质为:全氮、全磷和全钾含量分别为 0.51, 0.26, 1.34 g/kg, 碱解氮、速效磷和速效钾含量分别为 37.75, 22.39, 143.42 mg/kg, 有机质含量 24.99 g/kg, 阳离子交换量 8.81 cmol/kg, pH 8.63, 全盐量 0.038 4%, 土壤机械组成为黏粒(<0.001 mm)占 40.19%, 粉粒(0.001~0.01 mm)占 40.33%, 砂粒(>0.01 mm)占 19.48%。

1.1.2 供试玉米 供试品种为“沃玉 963 号”,生育期为 128 天,种植前用去离子水冲洗和浸泡 2~3 h,选取 10 颗饱满且均匀的种子进行播种。

1.1.3 供试肥料及基质 盆栽所用底肥为腐殖酸复合肥,其配比浓度 N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O 为 18:18:18,总

养分 $\geq 54\%$ ,施用量为 0.75 g/kg。兽用四环素购置于灵安生物科技兽药直销店,纯度 $\geq 98\%$ ;菌剂购置于山西省太谷县肥料公司,且有效活菌数 $\geq 2 \times 10^8$ 个/g;蚯蚓粪购置于山东瓦力生物科技有限公司;生物炭购置于平遥县晟宏生物质能源开发有限公司;菌糠购置于聚荣顺农业科技有限公司。蚯蚓粪、生物炭和菌糠的基本性质见表 1。

表 1 供试材料基本性质 单位:g/kg

供试材料	全氮	全磷	全钾
蚯蚓粪	23.34	25.93	21.52
生物炭	10.15	11.86	23.65
菌糠	12.79	5.58	15.66

## 1.2 试验设计

试验于 2018 年 4 月 18 日在山西农业大学资源环境学院实验站进行,采用玉米盆栽试验,外源添加兽用四环素作为污染物,共设置 9 个处理,分别为 CK 处理(不添加四环素)、TC 处理(添加四环素)、QY 处理(添加四环素+蚯蚓粪)、JK 处理(添加四环素+菌糠)、JF 处理(添加四环素+菌剂)、S 处理(添加四环素+生物炭)、JQ 处理(添加四环素+菌剂+蚯蚓粪)、JJ 处理(添加四环素+菌剂+菌糠)和 JS 处理(添加四环素+菌剂+生物炭),每个处理重复 4 次。其中四环素和菌剂施用量均为 50 mg/kg,蚯蚓粪、菌糠和生物炭施用量均为 15 g/kg。盆栽采用底部内径 14 cm、上部内径 19 cm、高 25 cm 的塑料盆,每盆装土 12.5 kg,并将上述底肥、四环素及各处理对应添加的基质与土壤充分混匀,装盆之后各处理随机排列。5 月 14 日收集玉米根、茎和叶,分别装入塑封袋中用于后续测定。

## 1.3 测定项目与方法

叶绿素含量采用 80% 丙酮提取法<sup>[13]</sup>测定;植物超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶活性分别采用 NBT 光还原法、碘量滴定法和 0.1% 愈创木酚比色法<sup>[13]</sup>测定;脯氨酸和可溶性蛋白含量分别采用酸性茚三酮法和考马斯亮蓝 G-250 染色法<sup>[13]</sup>测定;丙二醛和可溶性糖含量采用硫代巴比妥酸法<sup>[14]</sup>测定;总黄酮采用三氯化铝法<sup>[15]</sup>测定;土壤理化性质参照《土壤农化分析》<sup>[16]</sup>测定。

## 1.4 数据处理

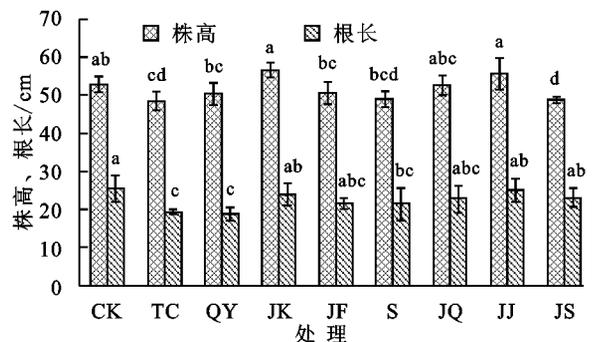
数据采用 DPS 7.0 软件进行方差分析、相关分析和 LSD 多重比较,并用 Excel 进行统计绘图。

# 2 结果与分析

## 2.1 不同处理对玉米生物量的影响

2.1.1 不同处理对玉米株高和根长的影响 由图 1 可以看出,TC 处理的玉米株高和根长均显著小于 CK 处理( $p < 0.05$ ),降幅分别为 8.57% 和 24.33%,

可见四环素对玉米株高和根长均有显著的抑制作用,且对玉米根长的抑制作用大于株高,可能是由于污染物与根部的接触最直接,因此在根部蓄积量最多,受到的毒害也最明显,而添加不同基质处理的玉米株高和根长均大于 TC 处理,说明添加不同基质可有效减少四环素对玉米株高和根长的抑制作用。其中,JK 和 JJ 处理的株高均显著大于 TC 处理( $p < 0.05$ ),升幅分别为 17.29% 和 14.87%,JK、JJ 和 JS 处理的玉米根长均显著大于 TC 处理( $p < 0.05$ ),升幅分别为 23.96%、30.08% 和 19.04%,说明添加不同基质尤其是单施菌糠及菌糠与菌剂配施对玉米生长具有促进作用,这可能是由于菌剂中的有益微生物与菌糠复合能够有效促进土壤养分的释放<sup>[17]</sup>,为玉米的生长提供充足的养分。



注:图中不同小写字母表示不同处理间显著差异( $p < 0.05$ )。下同。

图 1 不同处理对玉米株高和根长的影响

2.1.2 不同处理对玉米株鲜重和根鲜重的影响 由图 2 可以看出,TC 处理的玉米株鲜重显著小于 CK 处理( $p < 0.05$ ),降幅为 28.32%,说明四环素对玉米株鲜重有一定的抑制作用,而添加不同基质处理的玉米株鲜重均大于 TC 处理,其中 JK、JF 和 JJ 处理均显著大于 TC 处理( $p < 0.05$ ),升幅分别为 45.91%、24.07% 和 24.23%,这说明添加菌糠、菌剂及其配施对玉米地上部分的生长均有显著的促进作用;TC 处理的玉米根鲜重小于 CK 处理,降幅为 29.47%,且添加不同基质处理的根鲜重均大于 TC 处理,可见添加不同基质均能缓解四环素对玉米地下部分的毒害作用,其中 JK、JF 和 JJ 处理均显著大于 TC 处理( $p < 0.05$ ),升幅分别为 84.14%、74.07% 和 111.38%。总体可见,菌糠和菌剂及其配施能有效缓解四环素对玉米地上部分和地下部分生物量的抑制作用。

2.1.3 不同处理对玉米叶面积的影响 由图 3 可以看出,TC 处理的玉米叶面积小于 CK 处理,且差异不显著,降幅为 18.08%,表明四环素对玉米叶片生长有一定的抑制作用,而添加不同基质处理的玉米叶面积均大于 TC 处理,其中,JK、JQ、JJ 和 JS 处理均显著大于 TC 处理( $p < 0.05$ ),升幅分别为 54.77%,

50.44%, 50.13% 和 30.01%, 可见添加不同基质对缓解四环素的毒害作用有一定效果。

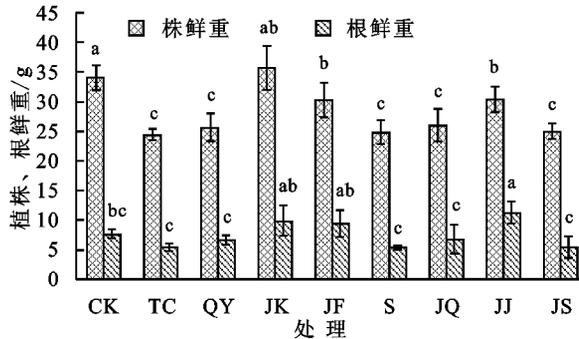


图 2 不同处理对玉米株鲜重和根鲜重的影响

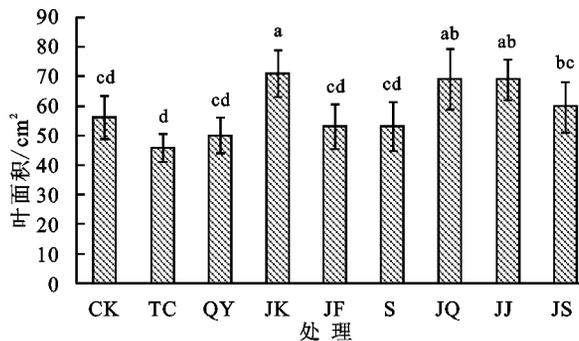


图 3 不同处理对玉米叶面积的影响

## 2.2 不同处理对玉米叶绿素含量的影响

植物叶绿素会直接参与植物体的光合作用,其含量的高低可以反映植物生长及受外界胁迫的状况,同时叶绿素具有敏感性,当植物体暴露于重金属或有机污染时,会通过影响叶绿素含量,进而影响植物体生长<sup>[18]</sup>。由图 4 可以看出,TC 处理的玉米叶绿素含量略低于 CK 处理,降幅为 7.46%,可能是由于四环素对叶绿素合成过程中的关键酶类有抑制作用,因此影响叶绿素的合成,这与李亚宁等<sup>[18]</sup>的研究结果一致。与 TC 处理相比,添加不同基质处理后玉米叶绿素含量均呈上升趋势,其中 S>JQ>JJ>JK>QY>JF>JS,说明几种基质均能在一定程度上缓解四环素污染,且 S 处理的叶绿素含量最高,升幅为 190.64%,这可能与生物炭本身的性质有关,能够加速叶绿素的合成。

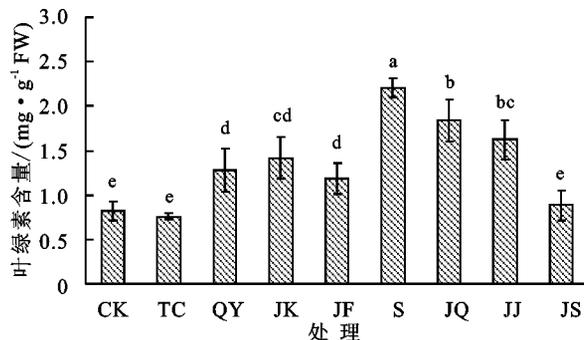


图 4 不同处理对玉米叶绿素含量的影响

## 2.3 不同处理对玉米抗氧化酶系统的影响

植物在正常生长条件下,体内的活性氧与抗氧化酶系统保持着动态平衡,当植物遭受逆境胁迫时,体

内会产生大量的活性氧,若多余的活性氧不能被及时清除,将对植物的生长发育产生毒害作用<sup>[19]</sup>。因此,植物为维持正常生长,会通过抗氧化酶系统抵御外界胁迫。超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD) 是抗氧化酶系统中控制植物体内活性氧积累最主要的酶<sup>[19]</sup>。

SOD 是植物体在清除活性氧的过程中首先发挥作用的,能够清除植物体内的超氧阴离子自由基,催化其发生歧化反应<sup>[19]</sup>。由表 2 可以看出,TC 处理的玉米叶片 SOD 活性显著大于 CK 处理 ( $p < 0.05$ ),升幅为 3.34%,表明玉米在遭受逆境胁迫时,玉米叶片中超氧阴离子自由基含量升高,诱导 SOD 活性上升,而添加不同基质处理的 SOD 活性与 TC 处理相比,出现了不同的趋势,其中 QY、JF、JK、JJ 和 JS 处理均低于 TC 处理,且 JF 和 QY 处理的 SOD 活性显著低于 TC 处理 ( $p < 0.05$ ),降幅分别为 6.78% 和 2.48%,说明添加不同基质尤其是蚯蚓粪和菌剂均能有效缓解四环素对玉米的胁迫作用,从而降低 SOD 活性。

CAT 能够清除代谢过程中产生的  $H_2O_2$ ,以避免  $H_2O_2$  积累过多造成细胞的氧化破坏<sup>[19]</sup>。由表 2 可以看出,TC 处理的 CAT 活性低于 CK 处理,降幅为 10.98%,可见添加四环素对玉米 CAT 活性产生了抑制作用,而添加不同基质处理的 CAT 活性均高于 TC 处理,其中 JQ 和 QY 对 CAT 活性提高作用最明显,升幅分别为 129.45% 和 93.15%,且表明单施蚯蚓粪及蚯蚓粪与菌剂配施能诱导产生更多的 CAT 以清除多余的  $H_2O_2$ 。

POD 是植物体内酶促防御系统的一种保护酶,但它也具有双重性,既能催化  $H_2O_2$  分解成水,有效阻止  $H_2O_2$  在植物体内的累积,又能催化超氧自由基和  $H_2O_2$  转变为羟自由基而加重过氧化作用<sup>[19]</sup>。由表 2 可以看出,TC 处理的 POD 活性显著低于 CK 处理 ( $p < 0.05$ ),降幅为 46.68%,而添加不同基质处理的 POD 活性均大于 TC 处理,这与 CAT 活性出现了一致规律,且 JJ、QY、JQ、JF 和 JK 处理的 POD 活性均显著高于 TC 处理 ( $p < 0.05$ ),升幅分别为 162.56%, 150.06%, 112.56%, 96.89% 和 28.17%,表明单施蚯蚓粪、菌糠及其与菌剂配施均能有效缓解四环素对玉米的毒害作用。

## 2.4 不同处理对玉米其他抗性因子的影响

### 2.4.1 不同处理对玉米脯氨酸含量的影响

脯氨酸 (proline, Pro) 在植物体内起重要的渗透调节作用,植物在正常生长条件下,体内游离的 Pro 含量较低,而在逆境胁迫条件下,Pro 含量会显著增加,因此可反映植物受胁迫的程度,也可作为植物抗逆能力的指

标。由图 5 可知,TC 处理的玉米叶片脯氨酸含量显著大于 CK 处理( $p < 0.05$ ),升幅为 46.92%,说明四环素对玉米叶片产生了一定的毒害胁迫,从而诱导出更多的脯氨酸以维持植物的正常生长,而添加不同基质处理的玉米 Pro 含量均低于 TC 处理,其中 JK、JJ、S、

QY 和 JF 处理均显著低于 TC 处理( $p < 0.05$ ),降幅依次为 29.09%,20.34%,19.40%,14.19%和 13.48%,可见添加不同基质均对四环素污染起一定的缓解作用,JK 处理的 Pro 含量最低,也可反映出添加菌糠处理的玉米受胁迫程度低。

表 2 不同处理对玉米抗氧化酶系统的影响

处理	超氧化物歧化酶活性/ ( $U \cdot g^{-1} FW \cdot h^{-1}$ )	过氧化氢酶活性/ ( $H_2O_2 \text{ mg} \cdot g^{-1} FW \cdot \text{min}^{-1}$ )	过氧化物酶活性/ ( $\mu g \cdot g^{-1} FW \cdot \text{min}^{-1}$ )
CK	478.19±8.58d	0.164±0.044d	33.16±2.55bc
TC	494.15±8.22abc	0.146±0.025d	17.68±3.13e
QY	481.91±4.43d	0.282±0.042ab	44.21±3.13a
JK	488.83±8.22bcd	0.179±0.031d	22.66±2.12d
JF	460.64±8.24e	0.243±0.047bc	34.81±2.12c
S	504.79±5.32a	0.264±0.041b	18.24±2.78de
JQ	502.13±5.49ab	0.335±0.045a	37.58±1.80b
JJ	492.55±8.24cd	0.190±0.045cd	46.42±4.04a
JS	488.83±11.17bcd	0.244±0.037bc	21.00±2.21de

注:表中数据为平均值±标准差;同列不同字母表示各处理间差异显著( $p < 0.05$ )。

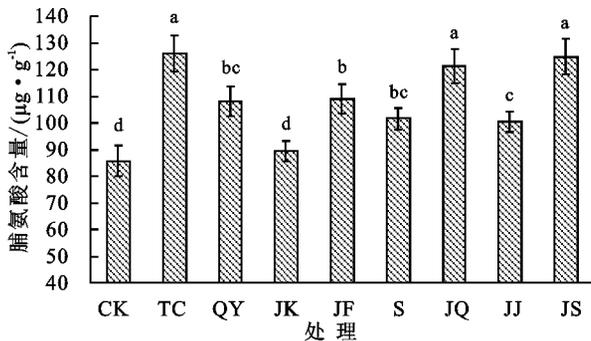


图 5 不同处理对玉米脯氨酸含量的影响

2.4.2 不同处理对玉米丙二醛含量的影响 丙二醛(malondialdehyde, MDA)是细胞膜脂过氧化的重要产物,其含量高低可以反映植物遭受逆境胁迫程度和细胞膜脂过氧化程度。由图 6 可知,玉米 MDA 含量的累积与 Pro 含量相似,TC 处理的 MDA 含量显著大于 CK 处理( $p < 0.05$ ),升幅为 11.22%,说明四环素使玉米 Pro 含量累积到一定程度进而引起植物细胞膜脂过氧化,使其 MDA 含量增加,这也可反映出植物遭受到四环素污染胁迫的程度,而添加不同基质处理的玉米 MDA 含量均低于 TC 处理,其中除 S 和 JS 处理外,其余处理均与 TC 处理达显著性水平( $p < 0.05$ ),且 JJ 处理的玉米 MDA 含量最低,降幅为 50.88%,表明菌糠与菌剂配施在玉米受到四环素胁迫时起到良好的抵御效果。

2.4.3 不同处理对玉米可溶性糖含量的影响 植物在逆境胁迫下,体内的可溶性糖会大量积累作为能量储备,其次作为植物体内主要的渗透调节物质,用于减少外界对植物造成的伤害。由图 7 可以看出,TC 处理的玉米可溶性糖含量大于 CK 处理,且不显著,升幅为 9.44%,说明四环素一定程度上可诱导可溶

性糖合成,而添加不同基质处理的玉米可溶性糖含量均低于 TC 处理,其中 QY、JJ、JQ、S 和 JS 处理的可溶性糖含量均显著低于 TC 处理,降幅分别为 42.01%,31.03%,26.53%,21.38%和 10.40%,这也可反映出添加不同基质对缓解 TC 胁迫有一定效果,且单施蚯蚓粪效果较好。

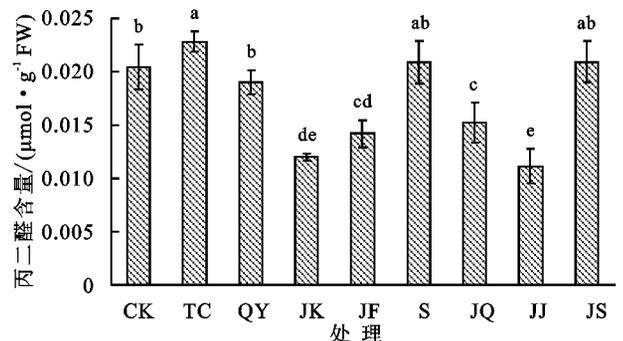


图 6 不同处理对玉米丙二醛含量的影响

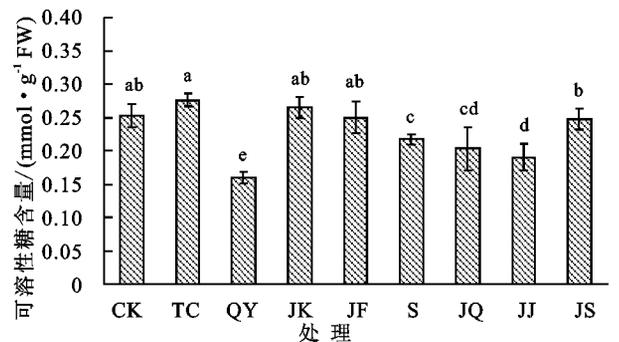


图 7 不同处理对玉米可溶性糖含量的影响

2.4.4 不同处理对玉米可溶性蛋白含量的影响 可溶性蛋白含量可以反映植物体代谢过程中蛋白质的损伤程度,也能反映细胞内蛋白质的合成、变性及降解等信息<sup>[18]</sup>,在逆境胁迫下,植物体内可溶性蛋白的合成能力会随污染物种类、植物类型等变化而改变。

由图 8 可以看出,TC 处理的玉米可溶性蛋白含量显著高于 CK 处理( $p < 0.05$ ),升幅为 45.34%,说明四环素对玉米可溶性蛋白含量具有显著的诱导效应,这与肖明月等<sup>[6]</sup>的研究结果一致,而添加不同基质处理对玉米可溶性蛋白含量则影响不一,其中 S、JK、JJ、JS、JF 和 JQ 处理均显著低于 TC 处理( $p < 0.05$ ),降幅分别为 50.23%,47.81%,44.93%,35.84%,33.19% 和 9.52%,这说明玉米遭受四环素污染胁迫时,施用不同基质对四环素胁迫的抵御能力有所差异,且 S 处理效果最好。

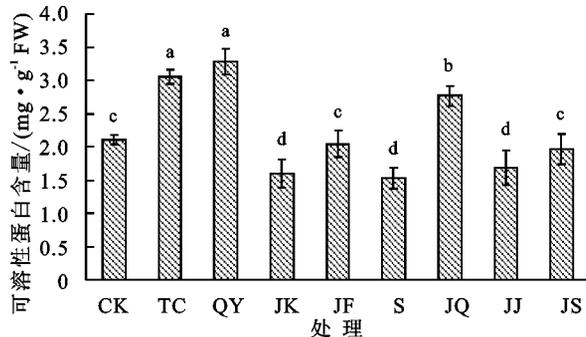


图 8 不同处理对玉米可溶性蛋白含量的影响

2.4.5 不同处理对玉米总黄酮含量的影响 黄酮是一类重要的次生代谢产物,参与植物的抗逆过程,其合成、积累与植物的生长环境关系密切,是植物抵抗外界胁迫的重要保护机制。由图 9 可以看出,与 CK 处理相比,TC 处理的玉米总黄酮含量略高,升幅为 10.33%,说明四环素胁迫使总黄酮含量增加,黄酮类物质积累在一定程度上能缓解四环素污染胁迫导致的膜脂过氧化作用,从而降低对玉米幼苗的伤害,而

添加不同基质处理的总黄酮含量均显著低于 TC 处理( $p < 0.05$ ),分析可得  $QY < JQ, JK < JJ, S < JS$ ,可见添加不同基质一定程度上缓解了四环素对玉米的毒性,且总体上单施效果优于配施。

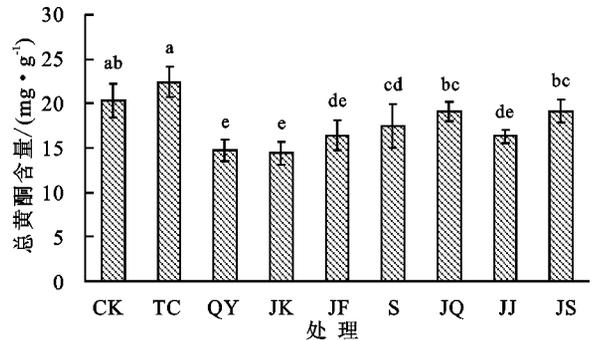


图 9 不同处理对玉米总黄酮含量的影响

## 2.5 玉米抗氧化酶活性与其他抗性因子的相关性

由表 3 可知,玉米 SOD 活性与其他指标均无显著相关性;CAT 活性与玉米脯氨酸、丙二醛及总黄酮均呈负相关,且不显著,与可溶性糖含量呈极显著负相关;POD 活性与玉米丙二醛、可溶性糖均呈极显著负相关,与总黄酮呈显著负相关,这可能是由于玉米在四环素胁迫条件下,POD 活性越高,抵御胁迫的能力就越强,其体内的丙二醛、可溶性糖及总黄酮含量就越低;玉米脯氨酸与丙二醛呈显著正相关,且二者与可溶性蛋白、总黄酮的相关性呈现一致规律,均为极显著正相关;玉米可溶性糖与总黄酮呈显著正相关,与可溶性蛋白呈负相关,且不显著。此外,研究发现,玉米 POD 活性与可溶性糖、丙二醛与总黄酮相关性最强( $r$  分别为  $-0.64^{**}$  和  $0.59^{**}$ )。

表 3 玉米抗氧化酶活性与其他抗性因子的相关性

相关系数	SOD	CAT	POD	脯氨酸	丙二醛	可溶性糖	可溶性蛋白	总黄酮
SOD	1	0.15	-0.27	0.12	0.14	-0.1	-0.02	0.12
CAT		1	0.24	-0.32	-0.03	-0.50**	0.21	-0.14
POD			1	-0.16	-0.49**	-0.64**	0.24	-0.34*
脯氨酸				1	0.35*	-0.01	0.49**	0.42**
丙二醛					1	0.16	0.31**	0.59**
可溶性糖						1	-0.23	0.37*
可溶性蛋白							1	0.26
总黄酮								1

注:表中\*表示相关性在 5%水平差异显著;\*\*表示相关性在 1%水平差异显著。

## 3 讨论

本研究结果表明,四环素对玉米根长的抑制作用显著大于株高,可能与四环素在植物根部的蓄积量有关,且四环素可被根吸收并运输到胚胎,进而影响植株生长,这与 Liu 等<sup>[20]</sup>的研究结果一致,许多关于重金属、农药和有机污染等胁迫的研究<sup>[21-23]</sup>也表明,根是对污染物胁迫最敏感的部位。本研究发现,玉米受到四环素污染胁迫时,会抑制叶绿素的累积,这与李

亚宁等<sup>[18]</sup>的研究结果一致,可能是植物体受到污染胁迫时,捕光化合物 LHC 蛋白合成的转录过程会受到抑制,进而影响叶绿素的累积,而 S(生物炭)处理的叶绿素含量提高最显著,可能是由于生物炭与四环素协同加速了叶绿素的合成。此外,四环素胁迫破坏了玉米体内抗氧化防御系统的平衡,会显著诱导 SOD 活性而抑制 CAT 和 POD 活性,说明玉米受到胁迫时能够积极做出响应,通过提高 SOD 活性减轻多余活性氧对玉米的伤害,且主要依靠 SOD 作为第

一道防线,使 CAT 和 POD 发挥较小作用,此研究结果与肖明月等<sup>[6]</sup>的研究并不一致,可能是由于植物种类的差别所致,而添加不同基质后,细胞通过抗氧化酶的协同作用共同抵抗四环素污染胁迫,QY(蚯蚓粪)处理的玉米 SOD 活性显著低于 TC 处理,而其 CAT 和 POD 活性均显著高于 TC 处理,可见 QY 处理能有效促进抗氧化酶系统的平衡,但关于蚯蚓粪对玉米 SOD、CAT 和 POD 活性的不同反应机理尚不明确,还需进一步研究。

植物的脯氨酸、丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白和总黄酮等抗性因子均能反映植物体遭受逆境胁迫的程度,四环素使玉米体内抗性因子含量显著增加,可能是玉米生长条件遭受四环素污染时,诱导产生更多的脯氨酸和丙二醛,促进玉米可溶性糖及可溶性蛋白的合成,并通过黄酮类物质的积累缓解四环素污染胁迫导致的膜脂抗氧化作用,这与 Xie 等<sup>[9]</sup>对四环素胁迫条件下小麦的生理毒性研究结果一致,添加不同基质在一定程度上均能缓解四环素对玉米幼苗的毒害作用,JK(菌糠)和 JJ(菌糠+菌剂)处理的脯氨酸、丙二醛、可溶性蛋白及总黄酮含量均显著减少,而其株高、根长、株鲜重和根鲜重却显著增加。由此可见,单施菌糠及菌糠与菌剂配施对四环素胁迫的缓解效果均显著,可能是由于菌剂中有益微生物与菌糠复合能够有效促进土壤养分循环<sup>[17]</sup>,加速污染物的降解。

本研究发现,玉米抗氧化酶系统、抗性因子及生物量间存在着密切的联系,在四环素污染胁迫条件下,添加不同基质能够促进抗氧化酶系统的平衡,减少其对细胞膜脂的伤害,为玉米生长提供良好的条件,进而提高玉米生物量水平;且对玉米抗氧化酶系统与其他抗性因子的相关性研究发现,SOD 活性与其他指标均无显著相关性,这与苏丹等<sup>[24]</sup>研究盐胁迫对 3 个白榆无性系的 SOD 活性与 POD 活性呈极显著正相关的发现并不一致,可能是由于研究的植物种类及胁迫条件不同,抗氧化酶系统的协同作用强弱也不同,而玉米 CAT、POD 活性均与脯氨酸、丙二醛、可溶性糖及总黄酮含量呈负相关,可能是由于 CAT 和 POD 活性越高,对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的清除能力就越强,对细胞膜脂氧化伤害的降低作用就越明显,相应的其抗性因子含量就越低。可见玉米能够通过抗氧化酶系统与其他抗性因子间的协同作用共同抵御四环素胁迫,保持植物体细胞的完整性,维持植物的正常代谢和生长。

## 4 结论

(1)四环素对玉米生物量及叶绿素均产生了抑制作用,且对根长的抑制作用显著大于株高,而添加不同基质均能缓解四环素对玉米株高、根长和叶绿素的抑制作

用,JK、JJ 处理分别对株高和根长的缓解效果最显著,升幅依次为 17.29%和 30.08%,S 处理对玉米叶绿素合成的促进作用最显著,升幅为 190.64%。

(2)四环素对玉米抗氧化酶系统的影响呈现不同趋势,会显著诱导玉米 SOD 活性上升,升幅为 3.34%,会抑制 CAT 和 POD 活性,降幅依次为 10.98%,46.68%,而添加不同基质均可在一定程度上缓解四环素对 3 种酶活性的不良影响,QY 处理对促进抗氧化酶系统平衡的效果最显著。

(3)四环素对玉米其他抗性因子的影响均呈一致变化趋势,增加玉米脯氨酸、丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白及总黄酮含量,而添加不同基质均能在一定程度上减少其含量,且减少效果最好的依次为 JK、JJ、QY、S 和 JK 处理,降幅分别为 29.09%,50.88%,42.01%,50.23%和 35.79%。

(4)相关分析表明,玉米抗氧化酶活性与其他抗性因子的相关性有所差异,SOD 活性与其他指标均无显著相关性;脯氨酸、丙二醛均与可溶性蛋白和总黄酮呈极显著正相关;POD 活性与可溶性糖、丙二醛与总黄酮相关性最强( $r$  分别为 $-0.64^{**}$ 和 $0.59^{**}$ )。

(5)总体可见,添加不同基质均能在一定程度上缓解四环素对玉米生长的毒害作用,JK(菌糠)、JJ(菌糠+菌剂)和 QY(蚯蚓粪)处理效果显著。

### 参考文献:

- [1] Arenas N E, Melo V M. Livestock production and emergency antibiotic resistance in Colombia: Systematic review[J]. *Infectio*, 2018, 22(2): 110-119.
- [2] Xue B, Zhang R, Wang Y, et al. Antibiotic contamination in a typical developing city in south China: Occurrence and ecological risks in the Yongjiang River impacted by tributary discharge and anthropogenic activities[J]. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 2013, 92(3): 229-236.
- [3] Rachel A M, Jerod J H, Kayla M N, et al. Assessing uptake of antimicrobials by *Zea mays* L. and prevalence of antimicrobial resistance genes in manure-fertilized soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 7(3): 409-415.
- [4] Liu X, Lv Y, Xu K, et al. Response of ginger growth to a Tetracycline-contaminated environment and residues of antibiotic and antibiotic resistance genes[J]. *Chemosphere*, 2018, 201: 137.
- [5] 迟苾琳,王卫中,徐卫红,等. 四环素类抗生素对不同蔬菜生长的影响及其富集转运特征[J]. *环境科学*, 2018, 39(2): 935-943.
- [6] 肖明月,安婧,纪占华,等. 六种常见抗生素对小白菜种子萌发及生理特性的影响[J]. *生态学杂志*, 2014, 33(10): 2775-2781.
- [7] 林琳,安婧,周启星. 土壤四环素污染对小白菜幼苗生长发育的生态毒性[J]. *环境科学*, 2011, 32(8): 2430-2435.

- [8] Ahmed M B M, Rajapaksha A U, Lim J E, et al. Distribution and accumulative pattern of tetracyclines and sulfonamides in edible vegetables of cucumber, tomato, and lettuce[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(2):398-405.
- [9] Xie X J, Zhou Q X, Lin D S, et al. Toxic effect of tetracycline exposure on growth, antioxidative and genetic indices of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2011, 18(4):566-575.
- [10] Farkas M H, Berry J O, Aga D S. Chlortetracycline detoxification in maize via induction of glutathione S-transferases after antibiotic exposure[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(4):1450-1456.
- [11] 徐秋桐, 顾国平, 章明奎. 有机肥对土壤中抗生素降解的促进作用[J]. *浙江农业学报*, 2015, 27(3):417-422.
- [12] 段曼莉. 生物炭对土壤中抗生素及其抗性基因变化的影响研究[D]. 陕西 杨凌:西北农林科技大学, 2017.
- [13] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社, 2006:218-228.
- [14] 林艳, 郭伟珍, 徐振华, 等. 大叶女贞抗寒性及冬季叶片丙二醛和可溶性糖含量的变化[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(25):68-72.
- [15] 何书美, 刘敬兰. 茶叶中总黄酮含量测定方法的研究[J]. *分析化学*, 2007, 35(9):1365-1368.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社, 2000:25-188.
- [17] 朱小平, 王文颇, 刘微, 等. 施用微生物加菌糠对辣椒养分吸收及土壤养分转化的影响[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(5):281-283.
- [18] 李亚宁, 张丽红, 殷艳艳, 等. 典型磺胺类抗生素对油菜叶片叶绿素、可溶性蛋白及抗氧化酶的影响[J]. *环境污染与防治*, 2017, 39(11):1209-1212.
- [19] Prabhukarthikeyan S R, Keerthana U, Raguchander T. Antibiotic-producing *Pseudomonas fluorescens*, mediates rhizome rot disease resistance and promotes plant growth in turmeric plants[J]. *Microbiological Research*, 2018, 210:65-73.
- [20] Liu D, Lu L, Luo W, et al. Degradation of tetracyclines in soils and their effects on root growth of Chinese cabbages (*Brassica campestris* L.) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(5):1957-1966.
- [21] 熊华焯, 秦俊梅, 马浩天. 含土霉素土壤添加不同基质后对玉米生理特性的影响[J]. *水土保持学报*, 2018, 32(2):283-289.
- [22] 秦俊梅, 熊华焯, 李兆君. 施用含四环素类抗生素鸡粪对玉米生长的影响及其残留特征[J]. *灌溉排水学报*, 2018, 37(9):22-28.
- [23] 王芳, 李永生, 王汉宁, 等. 钙对铅胁迫下玉米幼苗生长及生理特性的影响[J]. *水土保持学报*, 2016, 30(3):202-207.
- [24] 苏丹, 李红丽, 董智, 等. 盐胁迫对白榆无性系抗氧化酶活性及丙二醛的影响[J]. *中国水土保持科学*, 2016, 14(2):9-16.
- (上接第 341 页)
- [17] Zhang P, Chen X L, Wei T, et al. Effects of straw incorporation on the soil nutrient contents, enzyme activities, and crop yield in a semiarid region of China[J]. *Soil and Tillage Research*, 2016, 160:65-72.
- [18] 焦志华, 黄占斌, 李勇, 等. 再生水灌溉对土壤性能和土壤微生物的影响研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(2):319-323.
- [19] 於进, 杨胜翔, 王丹璐, 等. 甘肃中部干旱地区生活污水灌溉可行性分析[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(24):12188-12190.
- [20] 郭晓明, 马腾, 陈柳竹, 等. 污水灌溉区土壤肥力及酶活性特征研究[J]. *生态环境学报*, 2012, 21(1):78-83.
- [21] Tautges N E, Sullivan T S, Reardon C L, et al. Soil microbial diversity and activity linked to crop yield and quality in a dryland organic wheat production system [J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 108:258-268.
- [22] 葛红莲, 陈龙, 张军令, 等. 长期污水灌溉对小麦根际土壤微生物区系的影响[J]. *节水灌溉*, 2009(5):14-15.
- [23] 常强强, 范佳佳, 刘慧君, 等. 不同地区青檀根际土壤肥力和真菌多样性及其相关性分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2017, 26(3):27-34.
- [24] Qaryouti M, Bani-Hani N, Abu-Sharar T M, et al. Effect of using raw waste water from food industry on soil fertility, cucumber and tomato growth, yield and fruit quality [J]. *Scientia Horticulturae*, 2015, 193:99-104.
- [25] 曲成闯, 陈效民, 韩召强, 等. 施用生物有机肥对黄瓜不同生育期土壤肥力特征及酶活性的影响[J]. *水土保持学报*, 2017, 31(6):279-284.