

杨勇,夏运生,念江稳,等.环丙沙星和土霉素对烤烟幼苗生长发育和光合特性的影响[J].华中农业大学学报,2023,42(6):196-204.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2023.06.023

环丙沙星和土霉素对烤烟幼苗生长发育 和光合特性的影响

杨勇^{1,2},夏运生²,念江稳¹,王要君²,毛迎¹,年夫照¹

1. 云南农业大学烟草学院,昆明 650201; 2. 云南农业大学资源与环境学院,昆明 650201

摘要 为研究抗生素环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)和土霉素(oxytetracycline, OTC)对烤烟生长的影响,以“红花大金元”为试材,采用漂浮育苗方式,分析不同质量浓度(0、5、15、30、45、60 mg/L)的抗生素处理下,烤烟幼苗生长情况、叶绿体结构与色素含量变化、光合指标变化及抗生素在烤烟体内累积情况。结果显示:低质量浓度($CIP < 15$ mg/L, $OTC < 5$ mg/L)的抗生素处理能刺激烤烟幼苗的生长,而高质量浓度处理则表现出抑制效果;透射电镜(TEM)观察结果显示,2种抗生素低质量浓度处理均会破坏烤烟幼苗叶绿体结构;随着2种抗生素处理质量浓度的增加,烤烟幼苗叶片叶绿素含量均逐渐降低且净光合速率 P_n 、蒸腾速率 T_r 、气孔导度 G_s 逐渐减小,而细胞间 CO_2 浓度 C_i 逐渐增加;烤烟幼苗不同部位对CIP和OTC的累积量都表现出根>叶>茎的规律。研究结果表明:低浓度抗生素能促进烤烟幼苗生长,但抗生素对叶片叶绿体结构的破坏造成了色素含量的减少及光合能力的下降,最终会影响烤烟生长及品质;生产中应减少抗生素的使用,避免可能增加的植物富集风险。

关键词 环丙沙星; 土霉素; 烤烟幼苗; 生长发育; 光合作用; 抗生素残留

中图分类号 S572 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2023)06-0196-09

我国是抗生素使用大国,抗生素带来的环境问题受到人们越来越多的关注^[1-2]。抗生素进入动物体内的量约有75%以原形通过粪便和尿液排出体外,然后随着粪便施用进入土壤环境,造成土壤抗生素污染^[3]。土壤中残留的抗生素会通过植物根系吸收进入到植物体内,进而导致植物各种生理生化指标的改变,如生长发育、光合作用、呼吸作用以及氮代谢等^[4]。环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)和土霉素(oxytetracycline, OTC)作为广谱抗生素,广泛使用于畜禽养殖业和农业生产中,在我国北方CIP检出率为86%^[5]。脱霞霞^[6]研究发现,80 mg/kg的CIP处理能显著降低黑麦草的株高、分蘖数和生物量;张天堂等^[7]研究发现,0.1~1.0 mg/L的CIP处理能够促进小麦种子根和芽的生长,而5 mg/L处理则会抑制小麦生长、干物质积累和根系生长;Boxall等^[8]研究发现,OTC能显著抑制胡萝卜和莴苣生长,可见抗生素残留污染威胁着生态环境安全。

烟草是我国重要的经济作物之一,种植面积广

泛,烟叶品质严重影响其经济产出,研究表明,土壤等的抗生素残留会对烟叶品质产生不利影响,如毛迎^[9]研究发现抗生素可以改变烤烟叶片中还原糖、总糖、总酚和致香物质的含量,进而对烤烟品质造成影响。目前有关抗生素对烟草幼苗生长的影响研究报道较少。本研究以烤烟“红花大金元”幼苗为材料,探究不同质量浓度CIP和OTC对烤烟幼苗生长发育的影响及差异,并观察抗生素CIP和OTC作用下烤烟叶片叶绿体结构的变化,以明确2种抗生素的残留对烟草的生态毒理效应,旨在为氟喹诺酮类和四环素类抗生素的环境风险评估及烟田应用管理提供重要的科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用烤烟品种为红花大金元,培养基质为烟草育苗专用基质,营养液为改良霍格兰营养液。试验所用药品与试剂:盐酸盐环丙沙星, USP 级,

收稿日期:2023-10-01

基金项目:中国烟草总公司四川省公司科技项目(SCYC202210)

杨勇, E-mail: 371312774@qq.com

通信作者:年夫照, E-mail: fuzhaonian@ynau.edu.cn

88.5%;盐酸盐土霉素, USP级, 95%。

1.2 试验设计

试验于2023年4—8月在云南农业大学烟草学院试验温室大棚进行, 烟草育苗基质育苗。待出苗25 d后(四叶一心), 挑选长势一致的烟苗移至改良霍格兰营养液(14 L)中水培并施加不同质量浓度(0、5、15、30、45、60 mg/L)抗生素处理, 每个处理3次重复。抗生素处理后第10天取样, 进行生理生化指标及抗生素含量测定分析。调节温室大棚气温, 白天 $(28\pm 2)^\circ\text{C}$, 夜间 21°C 。

1.3 测定指标及方法

1) 农艺性状及根系构型。采用随机取样法, 每个处理组选取长势一致的3棵($n=3$)植株样品, 参考YCT142—2010《烟草农艺性状调查测量办法》, 测定叶片最大叶长、最大叶宽、株高和茎围。根系扫描采用EPSON Scan根系扫描仪, 数据分析采用WinRHIZO Reg根系扫描分析系统。测量烟苗总根长、平均直径、根表面积和根系体积。

2) 烟株抗生素质量浓度。烤烟幼苗中抗生素测定在浙江大学智达N2000色谱工作站进行, 采用日本岛津shimadzu 20AT高效液相色谱系统, 色谱柱采用安捷伦ODSC 18 column ($5\ \mu\text{m}$, $250\ \text{mm}\times 4.6\ \text{mm}$)。CIP测定方法: 流动相为甲醇:1%乙酸=20:80(V/V), 流速 $1.0\ \text{mL}/\text{min}$, 柱温 35°C , 紫外检测波长 $277\ \text{nm}$ 。OTC检测方法为: 流动相为乙腈:0.05 mol/L柠檬酸=15:85(V/V), 流速 $1.0\ \text{mL}/\text{min}$, 柱温 40°C , 紫外检测波长 $280\ \text{nm}$, 具体方法参考文献[10]。

3) 叶片叶绿素含量。取 $0.2\ \text{g}$ 新鲜叶片, 放入研钵, 加入少量石英, 再加入95%乙醇 $2\sim 3\ \text{mL}$, 研磨匀浆, 加入95%乙醇 $10\ \text{mL}$ 继续研磨至组织变白, 静置 $3\sim 5\ \text{min}$, 过滤到 $25\ \text{mL}$ 棕色容量瓶中, 用95%乙醇定容到 $25\ \text{mL}$ 。将色素提取液倒入比色皿内, 以95%乙醇为对照($n=3$), 分别在波长 665 、 649 和 $470\ \text{nm}$ 处测定吸光值, 并计算叶片的叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素浓度^[11]。

4) 叶绿体结构观察。参考Khan等^[12]的方法并有所改进。用透射电子显微镜(TEM)观察烤烟叶片中叶绿体结构情况。叶片经3%戊二醛预固定, 1%四氧化锇再固定, 丙酮逐级脱水(质量分数梯度为30%—50%—70%—80%—90%—95%—100%), 将脱完水的组织先后经过脱水剂和环氧树脂(Epon 812)渗透液, 将渗透好的样品块灌上包埋液包埋, 经

过加温聚合形成包埋块, 之后用徕卡UC7超薄切片机把包埋好的样品块切成 $75\ \text{nm}$ 的薄片, 切片先用醋酸铀染色, 然后再用柠檬酸铅于室温下染色 $15\sim 20\ \text{min}$, 最后在日立H600-IV型透射电镜上观察叶绿体数目、形态和结构等。

5) 光合参数。使用Li-6400便携式光合仪(Li-Cor Inc, USA)测定每片烟叶的净光合速率 $[P_n, \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$ 、胞间 CO_2 浓度 $(C_i, \mu\text{mol}/\text{mol})$ 、气孔导度 $[G_s, \text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$ 、蒸腾速率 $[T_r, \text{mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$ 。在空气相对湿度 $60\sim 80\%$ 、气温 $23.5\sim 24.5^\circ\text{C}$ 和大气 CO_2 含量 $365\sim 400\ \mu\text{mol}/\text{mol}$ 的条件下进行测定, 测定时间为 $08:00\sim 10:00$, 饱和光强度为 $1\ 000\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ^[13]。

1.4 数据分析

数据计算采用Microsoft Excel 2021, 采用Origin 2019b绘制图, 采用IBM SPSS Statistics 24进行单因素方差分析(One-way ANOVA)及处理之间多重比较采用Duncan法($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 抗生素对烤烟幼苗生长的影响

2种抗生素对烤烟幼苗生长的影响如图1所示。随着处理质量浓度的增加, 差异越显著。由图2可知, 与对照相比, 低质量浓度($<15\ \text{mg}/\text{L}$)CIP处理下烤烟幼苗叶长有所增加, 株高、叶宽和茎围无显著差异。在CIP处理质量浓度大于 $15\ \text{mg}/\text{L}$ 时, 烤烟幼苗叶长、叶宽和株高均显著降低, 在 $60\ \text{mg}/\text{L}$ CIP处理下烤烟叶长、叶宽、株高分别降低 43.0% 、 54.1% 、 60.7% 。CIP对烤烟幼苗地上部和地下部鲜质量的影响如图2C所示。烤烟幼苗地下部鲜质量在低质量浓度($<15\ \text{mg}/\text{L}$)处理下有所增加, 对地上部无显著影响; 与对照相比, $30\sim 60\ \text{mg}/\text{L}$ 处理下, 显著降低了其地上部鲜质量, 各处理下分别降低 25.5% 、 33.7% 、 49.5% 。上述结果表明, 一定质量浓度的CIP处理下能刺激烤烟生长, 高质量浓度CIP则对烤烟生长表现出强烈抑制。

不同质量浓度OTC对烤烟的生长影响如图2B所示。随着胁迫时间和质量浓度的增加, 胁迫效应逐渐显著(图2B、D)。当OTC处理质量浓度小于 $5\ \text{mg}/\text{L}$ 时, 烤烟幼苗叶长、叶宽、株高与对照相比均有所增加。当OTC处理质量浓度大于 $5\ \text{mg}/\text{L}$ 时, 烤烟叶长、叶宽、株高随着OTC质量浓度的增加而降低。在 $60\ \text{mg}/\text{L}$ OTC处理时烤烟叶长、叶宽、株高分别降

低 36.7%、44.8%、58.1%。当 OTC 处理质量浓度大于 5 mg/L 时,地下部鲜质量随着 OTC 处理质量浓度的增加而减少,地上部鲜质量随着 OTC 处理质量浓度的增加逐渐减少(图 2D)。上述结果表明,2 种抗

生素对烤烟幼苗生长均表现出“低质量浓度促进,高质量浓度抑制”的效果,但存在不同的耐受阈值,CIP 和 OTC 分别在质量浓度大于 15、5 mg/L 时抑制烟株幼苗的生长发育。



图 1 不同质量浓度抗生素处理下的烤烟生长差异

Fig.1 Growth difference of flue-cured tobacco under different concentrations of antibiotics

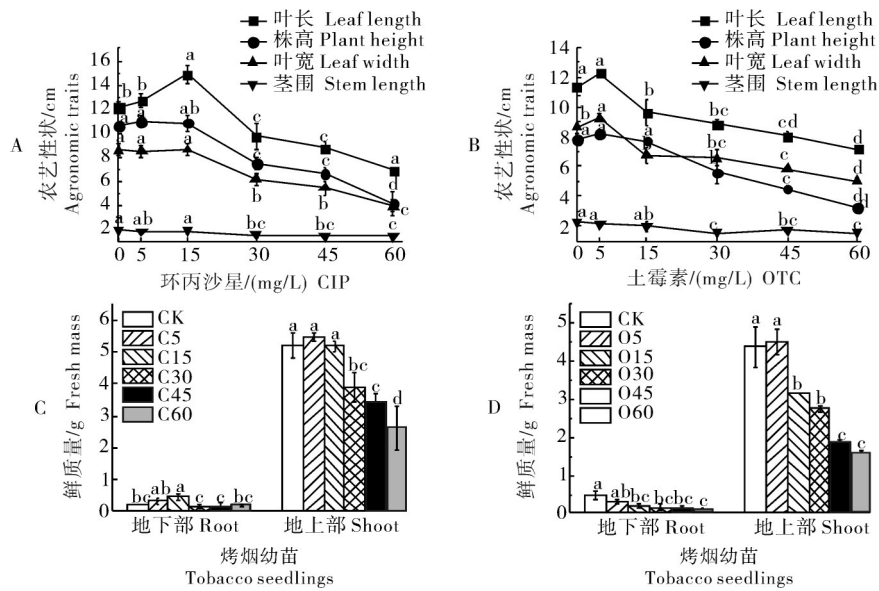


图 2 CIP 和 OTC 对烤烟幼苗农艺性状的影响

同列中不同小写字母表示组间差异有统计学意义($P<0.05$);图例中字母‘C’和‘O’表示 CIP 和 OTC,后边数字表示浓度,单位 mg/L,下同。Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among different treatments ($P<0.05$). In the illustration, the letters C and O denote CIP and OTC, followed by numbers indicating concentration, mg/L, the same as follows.

Fig.2 Effects of CIP and OTC on agronomic index of tobacco seedlings

2.2 抗生素对烤烟幼苗根系的影响

CIP 和 OTC 对烤烟根系的影响如表 1 所示,不同质量浓度 CIP 处理下,烤烟幼苗总根长、根表面积和根系体积在 T15 处理下达到最大,与对照相比,分别增加 31.1%、15.6% 和 4.2%,后逐渐降低,平均直径 CK 组最大。T60 处理时,烤烟幼苗总根长、根表面积、平均直径和根系体积均达最小,与对照相比分别减少 50.4%、67.3%、40% 和 80.3%。不同质量浓度 OTC 处理下,烟株幼苗总根长、根表面积、平均直径和根系体积一直降低,在 T60 处理下,与对照组相比,烤烟幼苗总根长、根表面积、平均直径和根系体

积分别显著降低 46.9%、55.8%、35% 和 66.2%。总体上低质量浓度抗生素对烤烟幼苗根系具有一定刺激作用,高质量浓度抗生素导致烤烟根变细和数量减少,最终抑制根系生长。

2.3 抗生素在烤烟幼苗器官的累积规律

研究结果表明,随着抗生素处理质量浓度的增加,烟苗体内的抗生素含量不断增加(图 3)。烤烟幼苗不同部位对抗生素的吸收量有差异,总体表现出根>叶>茎的累积规律。如图 3A 所示,随着 CIP 处理质量浓度的增加,烤烟不同部位中 CIP 的质量浓度也随之增加,烤烟幼苗根、茎和叶中 CIP 的含量分别

表 1 CIP 和 OTC 对烤烟幼苗根系的影响

Table 1 The effects of CIP and OTC on root structure of tobacco seedlings

处理 Treatment	总根长/cm Total length		根表面积/cm ² Surface area		平均直径/mm Average diameter		根系体积/cm ³ Volume	
	CIP	OTC	CIP	OTC	CIP	OTC	CIP	OTC
CK	244.29c	244.29a	47.22b	47.22a	0.60a	0.60a	0.71a	0.71a
T5	329.25a	192.38b	49.16b	37.07b	0.48c	0.62a	0.58b	0.57b
T15	320.28a	174.97c	54.59a	37.42b	0.54b	0.46b	0.74a	0.38c
T30	270.05b	173.29c	30.90c	21.69c	0.38d	0.40c	0.31c	0.22d
T45	135.14d	133.67d	16.06d	19.45c	0.37d	0.38c	0.16d	0.23d
T60	121.14d	129.63d	15.46d	20.88c	0.36d	0.39c	0.14d	0.24d

注：表中 T 表示处理，后边数字表示质量浓度，mg/L，下同。Note: T in the table represents treatment, and the following number indicates concentration, mg/L, the same as follows.

为 6.487~13.854、1.372~3.761、2.745~7.908 $\mu\text{g/g}$ 。不同质量浓度 OTC 处理下，烟草幼苗不同部位抗生素的含量也有较大的差异，OTC 在根中的质量浓度显著高于叶片和茎，叶片中的 OTC 质量浓度高于茎，且在不同处理下，OTC 的含量均为根>叶>茎(图 3B)，且烤烟幼苗根、茎、叶中 OTC 含量分别为 4.543~8.546、0.387~1.947、0.833~4.497 $\mu\text{g/g}$ 。不同 CIP 和 OTC 处理下，烤烟幼苗体内 2 种抗生素质量浓度均随着处理质量浓度的增加而增加，且抗生素在体内的分布均表现出根>叶>茎。

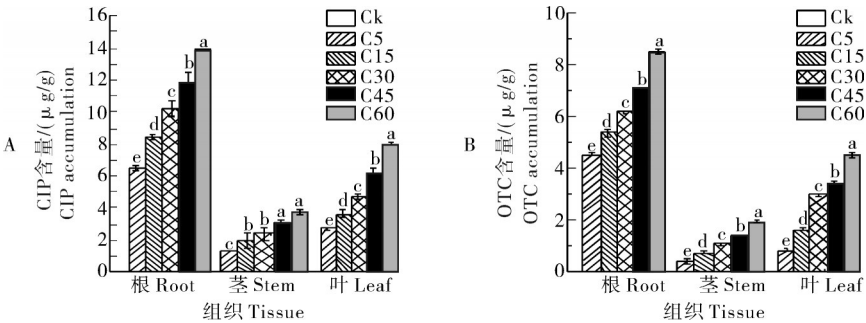


图 3 抗生素在烤烟幼苗器官的累积分布

Fig.3 Content of antibiotics in seedling organs of flue-cured tobacco

2.4 烤烟叶片叶绿体结构观察

抗生素处理下烤烟叶片叶绿体结构变化如图 4 所示。TEM 图像表明叶绿体的形状为椭球形或球形。未添加抗生素 CIP 处理的烟草叶片叶绿体超显微结构显示叶片叶绿体数量多而排列紧密，类囊体规则且堆叠紧密，在对照组的叶片中观察到很少的质体球和较多的淀粉粒，光合作用产生的有机物在叶片中积累(图 4A、B、C)。随着抗生素质量浓度的增加，烤烟叶片中叶绿体数量逐渐减少(图 4D、G)。在 30 mg/L CIP 处理中，可以观察到叶绿体数量的减少，体积缩小，膜的破裂，基质流出(图 4F)，类囊体形状肿胀，密度变低，基粒片层和垛叠间间隙变大。在 60 mg/L CIP 处理下，可以观察到烤烟叶片中叶绿体数量最少(图 4G、H、I)，叶绿体体积变得更小，形状变得扁长，类囊体变小，基质变多，片层和垛叠结构模糊，质体球变多。

不同质量浓度 OTC 处理下，与对照相比，烤烟

叶片中叶绿体数量变化差异不大(图 4A、J、L、N)。5 mg/L OTC 处理下，烤烟叶片叶绿体结构变化不大，大都呈现椭球形状，与对照相比叶绿体中质体球变多淀粉粒减少(图 4J、K)；类囊体数量变少，类囊体片层和垛叠结构间模糊不易区分，基粒片层间界限消失。30 mg/L OTC 处理下(图 4L、M)，烤烟叶片中叶绿体形状为椭球形，其中淀粉粒减少，类囊体片层和垛叠间距变大，叶绿体体积膨胀。60 mg/L OTC 处理下(图 4N、O)，烤烟叶片中叶绿体肿胀，类囊体数量变少，细胞间基质变多，片层垛叠结构模糊，叶绿体膜破裂细胞质流出。说明抗生素会破坏烤烟叶绿体结构，影响光合过程及有机物的产生。

2.5 对烤烟幼苗光合色素及光合性能的影响

2 种抗生素处理下，烤烟幼苗叶片光合色素变化如图 5 所示。与对照相比，烤烟幼苗叶片叶绿素总量呈下降趋势，其中 CIP 对叶绿素总量的影响较大，与

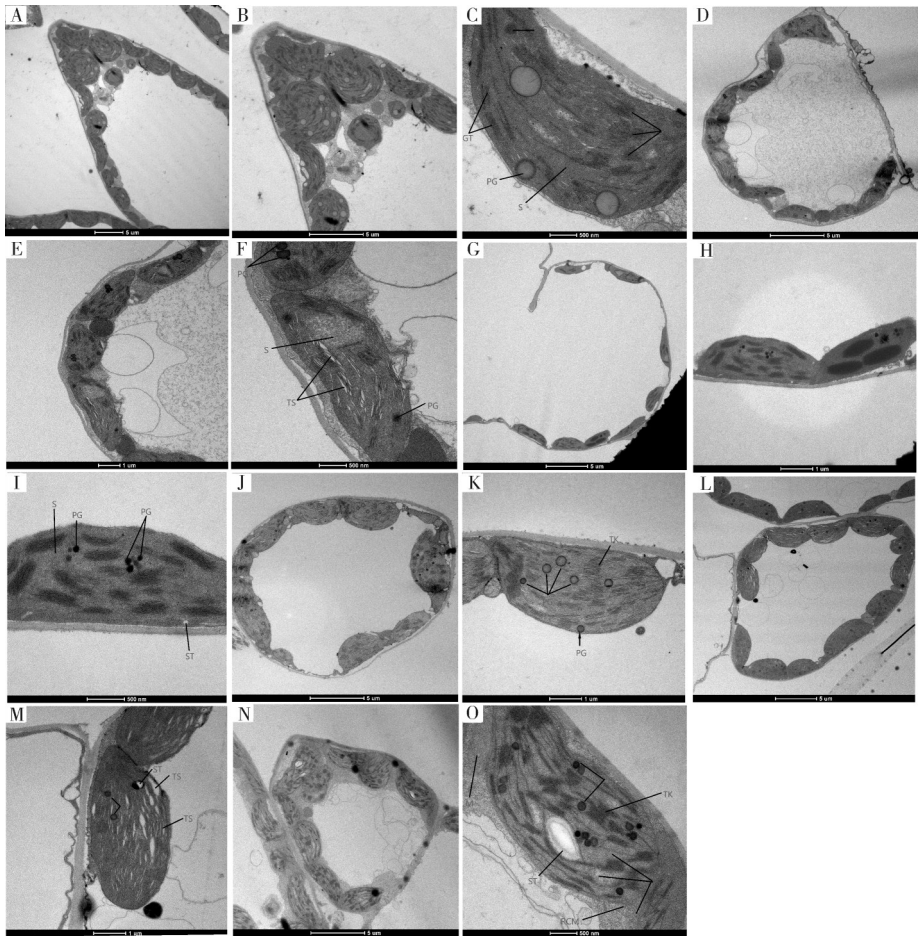


图 A、B、C 为对照, D、E、F 为 30 mg/L CIP 处理, G、H、I 为 60 mg/L CIP 处理; J、K 为 5 mg/L OTC 处理, L、M 为 30 mg/L OTC 处理, N、O 为 60 mg/L OTC 处理。PG: 质体球; GT: 基质类囊体; M: 线粒体; TS: 类囊体肿胀; ST: 淀粉; S: 基质; TK: 类囊体; RCM: 细胞膜破裂。A、B、C are control, D、E、F are 30 mg/L CIP treatments, G、H、I are 60 mg/L CIP treatments, J、K are 5 mg/L OTC treatments, L、M are 30 mg/L OTC treatments, N、O are 60 mg/L OTC treatments. PG: Plasmoglobule; GT: Stroma thylakoid; M: Mitochondria; TS: Thylakoid swelling; ST: Starch; S: Matrix; TK: Thylakoid; RCM: Cell membrane rupture.

图 4 透射电子显微镜下烟草叶片叶绿体结构变化

Fig.4 Chloroplast structure changes of tobacco leaves under transmission electron microscope

图 1 中烤烟叶失绿现象对应。随着抗生素 CIP 质量浓度增加,总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素与对照相比均降低。在 60 mg/L CIP 处理下,各指标较对照组分别降低 80.8%、87.3%、59.2% 和 55.5% ($P<0.05$)。随着 OTC 处理质量浓度的增加,烤烟幼苗叶片色素含量出现降低趋势。与对照相比,OTC 对烤烟叶片叶绿素 a 影响较大,对叶绿素 b 和类胡萝卜素的影响较小,各质量浓度处理下与对照相比叶绿素 a 分别降低 25.7%、31.1%、39.0%、46.7% 和 56.5% ($P<0.05$)。说明抗生素可以影响叶绿素进而抑制烤烟的生长。

如图 6 所示,烤烟幼苗净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)均随着 CIP 和 OTC 处理质量浓度的增加而降低,而细胞间 CO_2 浓度(C_i)增加。

CIP 处理下,各试验组 P_n 、 G_s 、 T_r 和 C_i 与对照相比均具有显著差异 ($P<0.05$)。T60 处理下,与对照相比, P_n 、 G_s 和 T_r 分别降低 59.2%、82.0% 和 54.9%, C_i 增加 25.6%。

OTC 处理下,与对照组相比,烤烟叶片 P_n 在 T5~T15 处理下有所降低,但差异不显著 ($P<0.05$),而 G_s 、 T_r 和 C_i 与对照组相比具有显著差异 ($P<0.05$)。T60 处理下, P_n 、 G_s 和 T_r 分别降低 30.1%、59.9% 和 28.3%, C_i 增加 34.5%。CIP 和 OTC 处理下显著抑制了烤烟幼苗的气孔开闭导度,表明抗生素可以影响烤烟叶片气孔的开度,进而对蒸腾作用和呼吸作用产生影响,最终对光合效率产生影响。

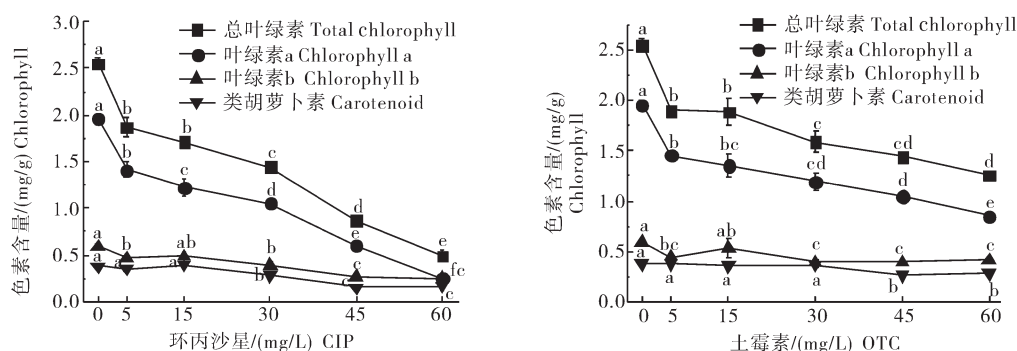


图5 土霉素和环丙沙星对烤烟幼苗叶片色素含量的影响

Fig.5 Effects of oxytetracycline and ciprofloxacin on pigment content in leaves of tobacco seedlings

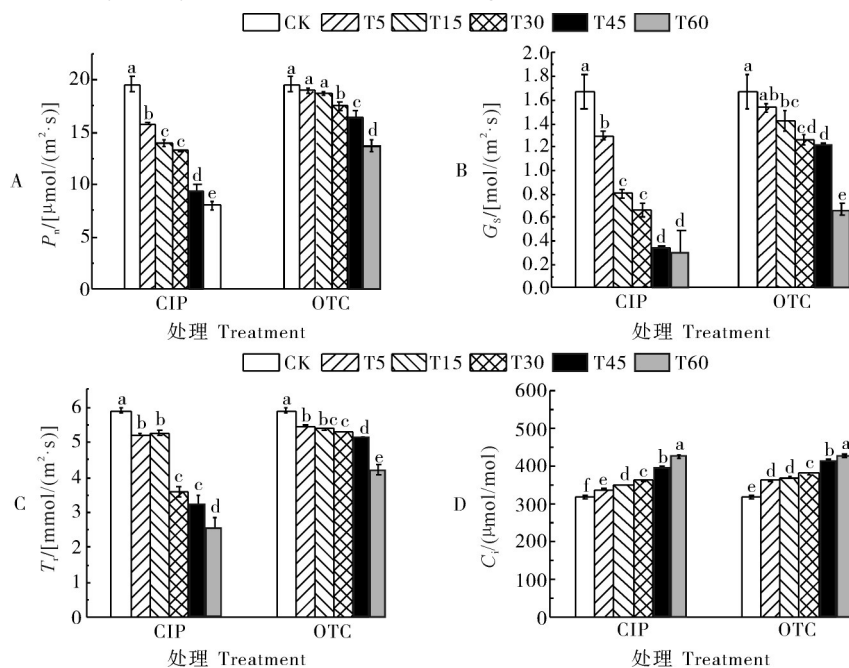


图6 2种抗生素对烤烟幼苗光合特征的影响

Fig.6 Effects of antibiotics of CIP and OTC on photosynthetic characteristic of tobacco seedlings

3 讨论

3.1 抗生素对烤烟生长的影响

本研究发现,不同质量浓度(0~60 mg/L)的环丙沙星和土霉素对烤烟幼苗生长的影响均表现为:低浓度促进,高浓度抑制。这与张继旭等^[14]研究发现四环素对烤烟的生长发育的影响结果类似,即添加低含量四环素(5 mg/kg)会使烤烟株高增加,促进其生长,而高含量(50和500 mg/kg)会严重抑制烤烟的生长。但李通等^[15]研究表明,玉米、萝卜和小白菜的根长和株高抑制率与CIP的质量浓度呈显著正相关,低质量浓度下CIP对3种作物的生长没有促进作用。原因可能是不同作物对同种抗生素的吸收及耐受性不同。Han等^[16]研究表明四环素类抗生素抑制植物根系生长,降低细胞通透性,造成根系氨基酸含

量发生变化,促进与代谢有关的活性氧的产生。本试验中抗生素对烟株根系的影响可能与此类似,低浓度下轻微刺激根系,高浓度抗生素造成根系生长受阻,影响营养物质的吸收,造成烤烟生长变慢。

3.2 抗生素对叶绿体结构的影响

本研究中抗生素处理下烟苗叶片叶绿素含量减少,叶绿体形态结构发生变化,叶绿体中类囊体肿胀、片层和垛叠结构发生改变。高浓度CIP和OTC引起烤烟叶片叶绿体数量变少,导致叶绿素的含量降低,这与Zhao等^[17]研究报道的环丙沙星诱导芸苔叶肉细胞破坏的结果一致。与Khan等^[18]研究结果类似,土霉素(OTC)和诺氟沙星(NF)导致羊草(*B. rapa* ssp. *chinensis*)叶片叶绿体形状膨胀,类囊体肿胀和排列错乱,质体球和粗糙内质网的数量也有所增加,叶绿体结构的改变对细胞中能量转换造成影

响。本试验中,在抗生素作用下叶绿体结构变化导致的结果可能与此类似。研究发现质体球在叶绿体中的作用与不同的代谢途径有关,质体球数量在非生物胁迫下增加与类囊体的损伤相关,并被视为抗生素应激的指标^[19]。本试验中抗生素处理下质体球数量增加,证明了抗生素CIP和OTC对叶绿体结构造成损伤,表明抗生素在细胞水平造成了更多的破坏,最终影响烤烟的生长。

3.3 烤烟对抗生素的吸收

根系是植物从土壤中吸收物质的主要器官,根系吸收是抗生素进入植物的主要途径之一,抗生素通常会在根中大量积累^[20]。贺德春等^[21]研究发现,小白菜对OTC的吸收及其浓度分布为根>叶>茎;徐秋桐等^[22]研究发现,水稻各器官中抗生素的积累量大小顺序为根系>叶片>茎秆>籽粒。本试验中,2种抗生素在烤烟幼苗内的累积质量浓度分布均为根>叶>茎,根中积累质量浓度最高,与前人研究结果^[21-22]类似。相同质量浓度处理下烤烟对CIP的吸收量大于OTC,这可能与抗生素化学性质有关,小分子化合物更容易被植物吸收,CIP相对分子质量比OTC低,这可能是造成本试验中烤烟对CIP吸收量多的原因之一。抗生素被根吸收后,主要通过蒸腾途径运输到植物各组织^[23],根部抗生素含量最高的原因可能是在水培条件下根部与抗生素接触面积较大,其次抗生素从烤烟幼苗地下部转运到地上部的能力有限,从而导致抗生素在地下部累积较多,同时也有可能和植物培养方式和生长时间有关^[24]。

3.4 抗生素对烤烟光合色素和光合指标的影响

光合作用是植物制造自身生长所需有机物的主要途径,叶绿素和类胡萝卜素均有吸收光能的作用,是植物能够顺利进行光合作用的物质基础^[25]。Chen等^[26]研究发现土霉素抑制甘草生长和光合过程,减少甘草叶绿素含量,改变了光系统之间的能量传递。本研究中随着CIP和OTC处理质量浓度的增加,烤烟叶绿素含量均降低,其中CIP处理下烤烟叶片叶绿素降低最多,与Wang等^[27]研究结果类似,即CIP造成烤烟Y87叶绿素a降低了87%。本试验中,CIP处理烤烟叶片出现失绿泛黄的现象,说明CIP降低了烤烟叶片色素含量。Gomes等^[28]研究表明CIP通过改变茶啉酸的结构进而影响类囊体膜中电子传递,导致其产生过量的ROS,诱导氧化损伤,降低叶片光合效率和损害光合产物的运输,严重时可能导致细胞死亡。Li等^[29]研究发现,土霉素处理显著降低了小

麦的 P_n 、 T_r 和 G_s ,显著增加了 C_i 。与本试验的结果一致, C_i 的变化方向是确定光合速率变化的主要原因,气孔导度越大,进入细胞的 CO_2 就越多,反应的 CO_2 越多, P_n 就越大,抗生素处理下可能是叶绿体结构受到破坏,色素含量下降,光合速率下降,导致细胞间 CO_2 的积累增加,影响光合作用过程及光合产物的积累。

综上所述,CIP和OTC显著影响烤烟幼苗的生长发育,虽然低质量浓度对烤烟生长有所促进,但从整体来看,这2种抗生素还是阻碍了烤烟的正常生长发育(根系的影响、叶绿体结构的破坏、色素含量的降低和光合过程的抑制等),对烤烟品质造成严重影响。在烤烟生产中应该减少抗生素的使用,以减少抗生素进入环境的风险,对于抗生素含量高的有机畜禽粪肥等应经过特殊处理后再排放,避免抗生素带来更多的危害。同时未来需要深入研究烤烟对这2种抗生素的吸收作用机制,以期找到降低抗生素对烤烟影响的具体方法。

参考文献 References

- [1] 杨礼震,刘天琪,王禄禄,等.养猪废水处理工艺对耐药基因迁移影响研究进展[J].华中农业大学学报,2022,41(4):1-9. YANG L Z, LIU T Q, WANG L L, et al. Research progress on transfer effect of antibiotic resistance gene in swine wastewater treatment process[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2022, 41 (4): 1-9 (in Chinese with English abstract).
- [2] KRUPKA M, PIOTROWICZ-CIEŚLAK A I, MICHALCZYK D J. Effects of antibiotics on the photosynthetic apparatus of plants[J]. Journal of plant interactions, 2022, 17(1): 96-104.
- [3] ZHANG H, LI X N, YANG Q X, et al. Plant growth, antibiotic uptake, and prevalence of antibiotic resistance in an endophytic system of pakchoi under antibiotic exposure[J/OL]. International journal of environmental research and public health, 2017, 14 (11): 1336 [2023-10-01]. <https://doi.org/10.3390/ijerph14111336>.
- [4] ROCHA D C, DA SILVA ROCHA C, SANTOS TAVARES D, et al. Veterinary antibiotics and plant physiology: an overview[J/OL]. Science of the total environment, 2021, 767: 144902 [2023-10-01]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144902>.
- [5] HOU J, WAN W N, MAO D Q, et al. Occurrence and distribution of sulfonamides, tetracyclines, quinolones, macrolides, and nitrofurans in livestock manure and amended soils of Northern China[J]. Environmental science and pollution research, 2015, 22(6): 4545-4554.
- [6] 脱霞霞. 环丙沙星对土壤抗性基因和微生物群落的影响[D].

- 杨凌:西北农林科技大学,2018.TUO X X.Effect of ciprofloxacin on diversity of resistance genes and bacterial communities in soil[D].Yangling: Northwest A & F University, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [7] 张天莹,余彬彬,林文轩,等.磺胺二甲嘧啶与环丙沙星对小麦种子萌发和幼苗生长的影响[J].农业资源与环境学报, 2021, 38(2): 176-184.ZHANG T Y, YU B B, LIN W X, et al.Effects of sulfadimidine and ciprofloxacin stress on seed germination and seedling growth of wheat[J].Journal of agricultural resources and environment, 2021, 38(2): 176-184 (in Chinese with English abstract).
- [8] BOXALL A B A, JOHNSON P, SMITH E J, et al.Uptake of veterinary medicines from soils into plants[J].Journal of agricultural and food chemistry, 2006, 54(6): 2288-2297.
- [9] 毛迎.生物炭对环丙沙星胁迫下烤烟生长和品质的影响[D].昆明:云南农业大学,2022.MAO Y.Effects of biochar on growth and quality of flue-cured tobacco under ciprofloxacin stress[D].Kunming: Yunnan Agricultural University, 2022 (in Chinese with English abstract).
- [10] 年夫照,孙永波,顾勇,等.烟草幼苗中土霉素含量的检测方法:CN106770804B[P].2019-07-12.NIAN F Z, SUN Y B, GU Y, et al.Method for detecting content of oxytetracycline in tobacco seedling: CN106770804B [P]. 2019-07-12 (in Chinese).
- [11] LIU B Y, LIU W Q, NIE X P, et al.Growth response and toxic effects of three antibiotics on *Selenastrum capricornutum* evaluated by photosynthetic rate and chlorophyll biosynthesis [J].Journal of environmental sciences, 2011, 23(9): 1558-1563.
- [12] KHAN K Y, ALI B, STOFFELLA P J, et al.Study amino acid contents, plant growth variables and cell ultrastructural changes induced by cadmium stress between two contrasting cadmium accumulating cultivars of *Brassica rapa* ssp. *chinensis* L. (pak choi) [J/OL].Ecotoxicology and environmental safety, 2020, 200: 110748 [2023-10-01]. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110748>.
- [13] 邓世杰,马辰宇,严岩,等.3种抗生素对黑麦草种子萌发的生态毒性效应[J].生态毒理学报,2019,14(3):279-285.DENG S J, MA C Y, YAN Y, et al.Ecotoxicological effects of three antibiotics on seed germination of *Lolium perenne* [J].Asian journal of ecotoxicology, 2019, 14(3): 279-285 (in Chinese with English abstract).
- [14] 张继旭,申国明,孔凡玉,等.四环素对烤烟生长发育及光合作用的影响研究[J].农业环境科学学报,2017,36(1):48-56.ZHANG J X, SHEN G M, KONG F Y, et al.Effect of tetracycline on the growth and photosynthesis of flue-cured tobacco [J].Journal of agro-environment science, 2017, 36(1): 48-56 (in Chinese with English abstract).
- [15] 李通,金彩霞,朱雯斐,等.环丙沙星与Cu复合污染对玉米萝卜和小白菜3种作物生态毒性研究[J].农业环境科学学报, 2013, 32(1): 15-20.LI T, JIN C X, ZHU W F, et al.Joint toxicity of CPFX and Cu on seed germination and root elongation of corn, radish and Chinese cabbage [J].Journal of agro-environment science, 2013, 32(1): 15-20 (in Chinese with English abstract).
- [16] HAN T, LIANG Y P, WU Z N, et al. Effects of tetracycline on growth, oxidative stress response, and metabolite pattern of ryegrass [J/OL]. Journal of hazardous materials, 2019, 380: 120885 [2023-10-01]. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120885>.
- [17] ZHAO H M, HUANG H B, DU H, et al. Intraspecific variability of ciprofloxacin accumulation, tolerance, and metabolism in Chinese flowering cabbage (*Brassica parachinensis*) [J]. Journal of hazardous materials, 2018, 349: 252-261.
- [18] KHAN K Y, ALI B, ZHANG S, et al. Effects of antibiotics stress on growth variables, ultrastructure, and metabolite pattern of *Brassica rapa* ssp. *chinensis* [J/OL]. Science of the total environment, 2021, 778: 146333 [2023-10-01]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146333>.
- [19] VAN WIJK K J, KESSLER F. Plastoglobuli: plastid microcompartments with integrated functions in metabolism, plastid developmental transitions, and environmental adaptation [J]. Annual review of plant biology, 2017, 68: 253-289.
- [20] LIU X H, 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: 137-143.
- [21] 贺德春,吴根义,许振成,等.小白菜和白萝卜对四环素类抗生素的吸收累积特征[J].农业环境科学学报,2014,33(6): 1095-1099.HE D C, WU G Y, XU Z C, et al.Uptake of selected tetracycline antibiotics by pakchoi and radish from manure-amended soils [J].Journal of agro-environment science, 2014, 33(6): 1095-1099 (in Chinese with English abstract).
- [22] 徐秋桐,顾国平,章明奎.土壤中兽用抗生素污染对水稻生长的影响[J].农业资源与环境学报,2016,33(1):60-65.XU Q T, GU G P, ZHANG M K. Effects of soil veterinary antibiotics pollution on rice growth [J]. Journal of agricultural resources and environment, 2016, 33(1): 60-65 (in Chinese with English abstract).
- [23] DODGEN L K, UEDA A, WU X Q, et al. Effect of transpiration on plant accumulation and translocation of PPCP/EDCs [J]. Environmental pollution, 2015, 198: 144-153.
- [24] HAWKER D W, CROPP R, BOONSANER M. Uptake of zwitterionic antibiotics by rice (*Oryza sativa* L.) in contaminated soil [J]. Journal of hazardous materials, 2013, 263: 458-466.
- [25] 李燕,张敏,宁朋,等.外源NO对盐胁迫下中华常春藤生理特性的影响[J].植物生理学报,2022,58(1):207-213.LI Y, ZHANG M, NING P, et al. Effects of exogenous NO on physiological characteristics of *Hedera nepalensis* var. *sinensis* under salt stress [J]. Plant physiology journal, 2022, 58(1): 207-213

- (in Chinese with English abstract).
- [26] CHEN X N, QIU D Y, LIN H M. Botanical characteristics and medicinal value of five *Glycyrrhiza* species cultivated in the Hexi region of Gansu [J]. *Acta prataculturae sinica*, 2016, 25 (4): 246-253.
- [27] WANG X J, WANG Y J, NIAN J W. Accumulation and distribution of oxytetracycline and Chlortetracycline in tobacco seedlings and their effects on tobacco growth [J]. *The journal of animal and plant sciences*, 2022, 32(3): 746-752.
- [28] GOMES M P, DE BRITO J C M, BICALHO E M, et al. Ciprofloxacin vs. temperature: antibiotic toxicity in the free-floating liverwort *Ricciocarpus natans* from a climate change perspective [J]. *Chemosphere*, 2018, 202: 410-419.
- [29] LI Z J, XIE X Y, ZHANG S Q, et al. Wheat growth and photosynthesis as affected by oxytetracycline as a soil contaminant [J]. *Pedosphere*, 2011, 21(2): 244-250.

Effects of ciprofloxacin and oxytetracycline on growth, development and photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco seedlings

YANG Yong^{1,2}, XIA Yunsheng², NIAN Jiangwen¹, WANG Yaojun², MAO Ying¹, NIAN Fuzhao¹

1. College of Tobacco Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract The floating seedlings of "Honghua Dajinyuan" were used to study the effects of ciprofloxacin (CIP) and oxytetracycline (OTC) on the growth of flue-cured tobacco. Analyzed the growth status, the changes of chloroplast structure and the content of pigment, the changes of photosynthetic index and the accumulation of antibiotics in flue-cured tobacco seedlings under the concentrations of antibiotics including 0 mg/L, 5 mg/L, 15 mg/L, 30 mg/L, 45 mg/L, and 60 mg/L were analyzed. The results showed that low concentration of antibiotics (CIP < 15 mg/L and OTC < 5 mg/L) stimulated the growth of flue-cured tobacco seedlings, while high concentration inhibited the growth of flue-cured tobacco seedlings. Both antibiotics at low concentrations damaged the chloroplast structure of flue-cured tobacco leaves under transmission electron microscopy (TEM) observation. As the concentration of two antibiotics increased, the content of chlorophyll, the net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r), and stomatal conductance (G_s) in the leaves of flue-cured tobacco seedlings gradually decreased, while the intercellular CO_2 concentration (C_i) increased gradually with the increase of the concentration of the two antibiotics. The accumulation of CIP and OTC in different parts of flue-cured tobacco seedlings decreased in a pattern of root > leaf > stem. It is indicated that low concentration antibiotics can promote the growth of flue-cured tobacco seedlings. Antibiotics damage the chloroplast structure of leaves, resulting in a decrease in the content of pigment and the photosynthetic capacity, ultimately affecting the growth and quality of flue-cured tobacco. Therefore, the use of antibiotics should be reduced in production to avoid potentially increased risks of plant enrichment.

Keywords ciprofloxacin; oxytetracycline; flue-cured tobacco; growth and development; photosynthesis; antibiotics residue

(责任编辑:陆文昌)