

不同形态氮肥降低菜心吸收累积环丙沙星 (CIP) 的生理生化机制

杜明慧¹, 成玉婷², 吴小莲^{3*}, 霍锦林³, 何子豪³, 陈永骥³, 何坤航³, 洪文泓³, 王海龙³

(1. 佛山科学技术学院食品科学与工程学院, 佛山 528000; 2. 湖南郴电国际发展股份有限公司, 郴州 432000; 3. 佛山科学技术学院环境与化学工程学院, 佛山 528000)

摘要: 以抗生素环丙沙星 (Ciprofloxacin, CIP) 为目标化合物, 以我国南方地区重要蔬菜作物菜心 (*Brassica parachinensis* L.) 为供试作物, 采用盆栽实验研究 4 种形态氮肥 (酰胺态氮、硝态氮、铵态氮和氰氨态氮) 处理下菜心组织中 CIP 含量及菜心生理生化特征, 并从菜心生理生化角度探讨了不同形态氮肥对菜心 CIP 吸收和转运能力的差异机制。结果表明, 4 种氮肥均显著降低了菜心组织中 CIP 含量, 且不同形态氮肥对菜心 CIP 富集产生显著差异, 其菜心地 上部 and 根系中 CIP 含量依次为酰胺态氮 < 铵态氮 < 硝态氮 < 氰氨态氮, 其含量与对照组相比降低了 20.7% ~ 62.0%, 且不同形态氮肥均降低了菜心根部富集系数 (BCF) 和茎叶转运系数 (TF), 其中酰胺态氮和铵态氮肥对 BCF 和 TF 抑制作用最为显著。同时, 施用氮肥均显著提高了菜心生物量、叶片硝酸还原酶活性、叶绿素 (a 和 b) 的含量, 结合分析荧光动力学曲线和叶片光系统 II (PS II) 叶绿素荧光参数, 发现氮肥能有效缓解 CIP 对菜心叶片 PS II 中电子传递链的干扰和破坏, 且能促进光合作用电子传递过程进而提高叶片光合作用性能, 特别是酰胺态氮肥的促进作用最为显著。综上所述, 可通过施用不同形态氮肥来调控作物生长和作物体内污染物富集水平, 结果可为农田作物安全生产提供科学依据。

关键词: 菜心; 环丙沙星; 氮肥; 抗生素; 生理生化

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2022)04-0630-08

Mechanism of different nitrogen fertilizer forms on transportation of Ciprofloxacin by Chinese flowering cabbage

DU Minghui¹, CHENG Yuting², WU Xiaolian³, HUO Jinlin³, HE Zihao³, CHEN Yongji³, HE Kunhang³, HONG Wenhong³, WANG Hailong³

(1. School of Food Science and Engineering, Foshan University, Foshan 528000; 2. Hunan Chendian International Development Co., Ltd., Chenzhou 423000; 3. School of Environmental and Chemical Engineering, Foshan University, Foshan 528000)

Abstract: A pot experiment was performed to study the Ciprofloxacin (CIP) content in the tissue of Chinese cabbage (*Brassica parachinensis* L.) and the characteristics of physiological and biochemical treated with four different nitrogen forms (amide nitrogen, nitrate nitrogen, ammonium nitrogen and cyanamide nitrogen). The influence mechanism of different forms of nitrogen fertilizer on absorption and transport capacity of CIP in Chinese cabbage was discussed based on the perspective of physiology and biochemistry. The results showed that all nitrogen fertilizers significantly reduced the CIP content in Chinese cabbage tissue, and significant differences were in the CIP enrichment among four nitrogen forms. The CIP content in the shoot and root of Chinese cabbage was in the order of amide nitrogen < ammonium nitrogen < nitrate nitrogen < cyanamide nitrogen, which decreased by 20.7% - 62.0% compared with the control group. The root enrichment coefficient (BCF) and the stem leaf transport coefficient (TF) of Chinese cabbage were reduced by nitrogen fertilizer, and among which amide nitrogen and ammonium nitrogen had the most significant inhibitory effects on BCF and TF. At the same time, the application of nitrogen fertilizer significantly increased the biomass, nitrate reductase activity and chlorophyll (a and b) content of Chinese cabbage leaves. Combined with the analysis of fluorescence dynamic curve and chlorophyll fluorescence parameters of leaf

收稿日期: 2021-10-16

基金项目: 国家自然科学基金 (4907344) 资助。

作者简介: 杜明慧, 硕士研究生。E-mail: dlmh000@163.com

* 通信作者: 吴小莲, 博士, 讲师。E-mail: 221gte@163.com

photosystem II (PS II), it was found that nitrogen fertilizer could effectively alleviate the interference and destruction of CIP on the electron transport chain in PS II of Chinese flowering cabbage leaves, which can promote the electron transfer process of photosynthesis and improve the photosynthetic performance of leaves, especially the amide nitrogen fertilizer. It was concluded that different forms of nitrogen fertilizer can be applied to regulate crop growth and pollutant enrichment level in crops. The results can provide a scientific basis for safe production of farmland crops.

Key words: Chinese flowering cabbage; ciprofloxacin; nitrogen fertilizer; antibiotics; physiology and biochemistry characteristics

抗生素在动物养殖业中用于促进动物生长和提高饲料利用率^[1-2], 使用后在动物体内只有少量被代谢, 大部分 (70%~80%) 随粪尿排出^[3-5]进入环境中, 导致环境中抗生素污染。抗生素可通过污水灌溉, 粪肥施用等措施进入土壤, 造成土壤中抗生素污染^[6], 特别是喹诺酮类抗生素在华南地区土壤中普遍检测出^[7], 其检测结果发现农田土壤中喹诺酮类抗生素检出率达 97% 以上, 且单个化合物含量在 0~42.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间^[8]。抗生素及其降解产物能被土壤中蔬菜等吸收和累积, 目前已有报道胡萝卜^[9]、莴苣^[10]、甘蓝^[9]、玉米和菜豆^[11]、菜心^[12]等蔬菜能不同程度吸收抗生素, 从而导致抗生素在植物可食部分进行累积并通过食物链进入人体内进而对人体健康造成潜在危害。抗生素会对植物产生刺激/有害作用^[7]。例如环丙沙星 (Ciprofloxacin, CIP) 通过抑制呼吸电子传递链中的正常电子流动而产生过氧化氢 (H_2O_2), 从而导致对光合作用系统的刺激/有害作用^[1]。因此, 降低植物对抗生素的吸收有利于规避植物毒害和食品安全问题。

氮肥作为肥料用来促进作物生长, 可改变植物生理生化特性^[13], 如杜永成等^[14]实验结果表明氮肥 (硝酸钙) 可以直接提高甜菜的硝酸还原酶活性、叶绿素含量和光合速率等生理生化指标, 从而提高甜菜的生物量。同时, 氮肥还可以改变土壤中污染物的生物有效性, 从而影响植物对污染物的吸收和累积作用。早期, Willaert 等^[15]发现使用氮肥可以改变菠菜对 Cd 的吸收。目前, 常见的氮肥形态有酰胺态氮肥、硝态氮肥和氨态氮肥等^[16], 植物对各种形态的氮肥利用率不同, 其植物生理生化势必也存在显著差异, 从而导致了植物对污染物吸收累积差异^[16]。如施加铵态氮肥比施加硝态氮肥更显著增强菠菜对 Cd 的吸收^[15]。Meng 等^[12]前期的研究证实氮肥可以有效减少菜心对环丙沙星的吸收和累积作用, 并从分子生物学的角度系统揭示了其作用机制, 高 NO_3^- 供应量可降低两种菜心对 CIP 的吸收速率和亲和力, 从而降低了菜心对 CIP 的吸收积累。然而, 污染物在植物体内的吸收和累积过程除了分子生物学作用机制以外, 植物生理生化机制对菜心吸

收和累积抗生素也会产生重要影响^[17]。因此, 基于这种假设, 本研究在前期基础上进一步探究了氮肥介导下植物吸收和累积环丙沙星的生理生化机制, 以期揭示氮肥影响植物吸收和累积污染物的植物生理与分子生物学奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

环丙沙星 (CIP, 纯度 > 98%), 于德国 Ehrenstorfer GmbH 公司购买。甲醇、乙腈均为色谱纯, 购于 Sigma 公司, 其他化学试剂和药品包括乙酸、硝酸铵、尿素、氯化铵、氰氨化钙、甲醇、硫酸铵等均为分析纯, 购自广州化学试剂厂和天津大茂化学试剂厂。实验用水为高纯水。油青四九菜心为课题组前期筛选的 CIP 高累积品种^[18], 购于广州市佰顺蔬菜研究所。盆栽土取自广州华南农业大学农田土壤试验基地, 采集风干、粉碎过 10 筛备用。农田土中 CIP 背景值为 0.071 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH 6.2, 有机质 132.4 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全氮 0.79 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全磷 1.28 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和全钾 12.5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2 方法

1.2.1 盆栽实验方法 污染土壤: 根据实际农田土壤中 CIP 污染水平设置盆栽土壤中 CIP 污染浓度为 20.00 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 将 CIP 用水溶解后均匀滴入已筛好的土壤中, 立即充分搅拌均匀配制污染土壤。加入适量高纯水保持土壤湿润 (含水率: 50%~60% 左右), 盖上遮阳布, 于室温下避光老化。2 周后装入实验盆 (每盆 2.5 kg 污染土) 中, 老化后土壤中 CIP 实际浓度为 19.3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。设置 4 种氮肥形态分别为 UR: 酰胺态氮 (尿素)、AN: 硝态氮 (硝酸铵)、AC: 铵态氮 (氯化铵)、CC: 氰氨态氮 (氰氨化钙), 添加不同种类氮肥 (用量为 160 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 于实验盆中, 同时设置未施加氮肥污染土壤 (NF) 和不添加 CIP (P) 为对照组, 共 6 个处理, 每个处理 3 个重复。

盆栽种子: 将菜心种子用过氧化氢 (2%) 消毒 30 min 后, 用高纯水冲洗 6~8 次, 将种子的表面水分用滤纸干燥, 均匀撒入盆中 (每盆约 20 粒), 加入一定量高纯水保持种子含水率。待幼苗生长至 4 片真叶时逐渐剔苗直至每盆保留 4 株长势一致的

植株,继续生长,在不同时期取样备测。

1.2.2 样品预处理 植物样品前处理参考文献[19],准确称取0.500 0 g已冻干磨碎的样品置于10 mL离心管中,加入乙腈-乙酸(49.5:0.5, $V:V$)提取液7.5 mL,超声提取30 min,离心($12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)8 min收集上清液。根据上述方法,残渣再提取2次,合并上清液于鸡心瓶中,旋转蒸发至近干,于鸡心瓶中加入1 mL高纯水,在超声波清洗器中清洗5次,然后将液体分批次过活化(甲醇和高纯水活化)后的HLB固相萃取小柱萃取富集(过HLB),待提取液富集完毕用6 mL高纯水清洗HLB小柱,真空干燥30 min,以6 mL甲醇洗脱HLB小柱,收集洗脱液在40 °C水浴下氮吹至近干,用乙腈-水(2:8, $V:V$)溶液定容至1 mL,过0.22 μm 滤膜后备测(于4 °C冰箱保存)。

1.2.3 HPLC-MS/MS分析 CIP采用超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法(HPLC-MS/MS)测定,其测定方法参考文献[19]。色谱条件为Kinetex C18色谱柱,35 °C柱温,30 min柱平衡时间;质谱条件为电喷雾离子源(ESI+),400 °C离子源温度,5 500 V毛细管电压;为保证实验质量,本实验采用内标法,样品测定时,向空白的植物样品中添加10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 环丙沙星标准品。植物样品回收率为67.4%~88.4%,标准偏差(RSD)小于10%。同时,为保证测定过程的稳定性,每隔20个样品进行1次标准工作液校正。

1.2.4 菜心生物量测定 所有菜心样品分为地上部和根部,用蒸馏水洗净、晾干,并用电子天平进行称重记录,最后放至-80 °C保存备用。

1.2.5 硝酸还原酶活性测定 在盆栽实验第25天和第35天采集菜心叶片,用分光光度计在520 nm处测定OD值,具体测定方法参照杜永成等[14]的方法。

1.2.6 叶绿素含量测定 盆栽实验完成后参考95%乙醇浸泡法[20]。测定叶片选取大小特征都相似的新鲜菜心叶片2.000 g,洗好擦干并且避开叶脉部分剪碎置于研钵中,向研钵中加入乙醇(95%)并研磨成匀浆进行浸泡至组织变白,再将浸提上清液转移并定容于50 mL容量瓶。取上清液置于分光光度计,在波长649和665 nm处测定其吸光度。计算得出叶绿素a和叶绿素b的含量。

1.2.7 叶绿素荧光诱导动力曲线 当盆栽实验进行到第47天时,采用手持植物效率仪(PEA)测定实验各处理菜心叶片叶绿素快速荧光诱导动力数据。每个处理选取10片菜心叶片避开叶脉区进行测

定。测定前首先将叶片进行暗适应20 min,然后采用Handy PEA发射饱和脉冲光($3\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)使叶片暴露1 s并记录测量如下参数:50 μs 荧光值(O相, F_0)、100 μs 荧光值(K相, F_K)、2 ms荧光值(J相, F_J)、30 ms荧光值(I相, F_I)和最大荧光值(P相, F_M),具体方法参照Tomar等[21],利用JIP-test分析获得O-J-I-P荧光诱导曲线[22]。

1.3 数据处理与分析

运用Excel 2018、Origin 8.5.1和Word 2018进行数据统计及图表绘制,SPSS 19.0进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 菜心生物量

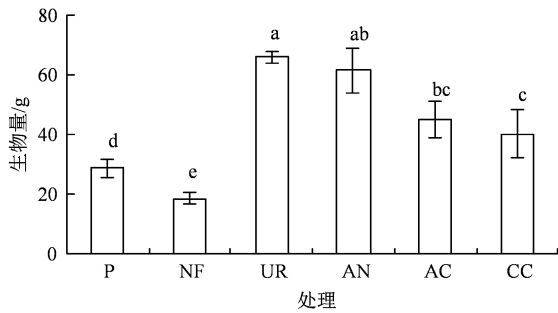
植物受污染物胁迫产生毒害作用时,生物量变化被认为最直接的指示物[23]。本研究发现(图1),环丙沙星污染(NF)显著降低菜心的生物量(相比对照P处理降低35.7%),表明CIP可抑制菜心生长[24-25]。这可能是由于CIP在一定程度上抑制菜心的光合作用和呼吸作用途径,引起植物毒性和刺激效应[1],从而抑制了菜心生长。

在环丙沙星胁迫下,与未施加氮肥的相比,施加氮肥显著提高菜心生物量,其生物量相对于NF处理提高了54.3%~72.3%。结果说明氮肥能有效缓解环丙沙星对菜心的胁迫毒害效应。这一方面可能是由于氮素进入土壤后与土壤中污染物形成了植物竞争吸收关系,抑制了植物对污染物的吸收,从而降低了污染物对植物的胁迫效应,进而促进了植物生长[12,26];另外一方面氮素作为植物生长的主要营养物质,吸收后的氮素在植物体内迅速被同化,植物生物量显著提高,进而稀释了污染物对植物的胁迫效应[27]。

不同形态氮肥对菜心生物量的影响存在显著差异,不同形态氮肥下菜心生物量大小依次为:酰胺态氮(65.8 g)>硝态氮(61.4 g)>铵态氮(44.8 g)>氰氨态氮(40.0 g)。这一结果与前人[16,28-29]研究的结果一致,硝态氮和酰胺态氮能显著促进小麦、大青叶的生长,这可能是由于植物对不同形态氮素的吸收利用差异导致的。酰胺态氮加入土壤后,会被土壤中的脲酶水解成植物可以吸收利用的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,进而避免了直接施用过量的铵态氮肥短期内对植物产生的胁迫现象[30]。

处理硝态氮中的硝酸根离子易溶于水且带负电,故难以被土壤胶体吸附固定于土壤中,因此容易被植物吸收[31]。此外,不同作物对不同形态的氮素有偏好,例如,旱生植物喜好硝态氮肥[30]。结果

说明, 可通过使用不同形态氮肥有效调节土壤中环丙沙星的毒害效应。



不同小写字母表示 CIP 胁迫对不同氮肥处理下菜心生物量的差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 CIP 胁迫对不同氮肥处理下菜心生物量的影响

Figure 1 Effects of CIP stress on biomass of Chinese flowering cabbage under different nitrogen treatments

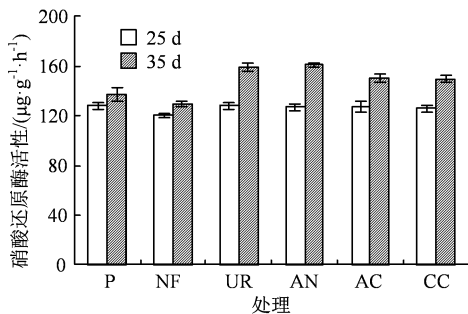


图 2 不同形态氮肥对菜心硝酸还原酶活性的影响

Figure 2 Effects of Nitrate reductase activity of Chinese flowering cabbage under different forms of nitrogen fertilization treatment

2.2 叶片硝酸还原酶活性

植物叶片中的硝酸还原酶 (Nitrate reductase, NR) 是植物氮素同化的关键酶, 也是一种诱导酶, 与作物吸收和利用氮素有关^[32]。本研究发现, 在种植 25 d 和 35 d 时, 暴露在 CIP 污染土壤中菜心叶片中 NR 的活性显著低于无污染对照处理, 其 NR 活性分别为 120.8 和 129.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (图 2), 说明 CIP 抑制了菜心叶片中 NR 活性, 进而可能影响菜心吸收和利用氮素。施用氮肥能显著缓解 CIP 对叶片 NR 活性的抑制, 种植 25 d 时, 施用氮肥后叶片中 NR 活性范围为 125.7~128.0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; 种植 35 d 时, 施用氮肥叶片中 NR 活性范围为 149.4~160.4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。说明种植时间越长, 氮肥发挥的作用越大。

不同形态氮肥处理下, 种植 25 d 时 NR 活性无显著性差异。但种植 35 d 时 NR 活性显著性差异。种植 35 d 时, 不同形态氮肥处理下叶片中 NR 活性大小依次为硝态氮 (160.4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) > 酰胺态氮 (158.6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) > 铵态氮 (149.7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) > 氰铵态氮 (149.4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)。结果与施用氮肥后生物

量特征 (图 1) 呈相似规律, 说明植物对不同形态氮肥的利用不同, 且氮素利用过程其诱导的 NR 活性也不同。有研究表明, 不同氮肥形态通过诱导 NR 活性来改变下游信号传导过程, 例如 NO_3^- 诱导植物中 NR 活性的增加, NH_4^+ 显著抑制 NR 活性^[33], 从而改变植物中基因表达、解毒及抗氧化系统等过程, 进而影响植物对污染物的吸收^[34]。例如, NO_3^- 增加遏蓝菜 (*Thlaspi caerulescens*) 和水稻体内的 Cd 的吸收和积累^[35-36], 而 NH_4^+ 和尿素降低水稻对 Cd 的吸收和积累^[36]。因此, 不同形态氮肥处理诱导的 NR 活性的变化可能是导致植物吸收累积 CIP 差异的一个重要因素。

2.3 叶片中叶绿素含量

植物叶片中叶绿素含量状况是反映其光合能力的重要指标之一, 并与净光合强度呈显著正相关关系^[37], 从而影响植物生长及植物对污染物的吸收累积能力。CIP 污染会显著降低菜心叶片中叶绿素 a 与叶绿素 b 含量, 与对照 (处理 P) 相比, 分别下降 20.3% 和 24.2% (图 3)。这可能是因为 CIP 与相关酶作用抑制叶绿素前体的合成, 同时通过提高细胞中叶绿素酶的活性促进叶绿素分解或直接破坏叶绿体结构, 而降低植物体内叶绿素的含量。

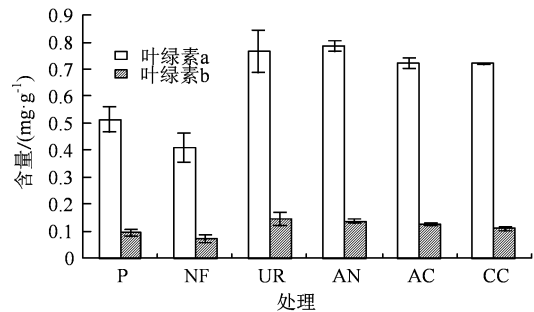


图 3 不同氮肥形态对菜心叶绿素含量的影响

Figure 3 Effects of different forms of nitrogen fertilizer on the chlorophyll contents of Chinese flowering cabbage

施加氮肥能显著提高菜心叶片的叶绿素 a 与叶绿素 b, 其含量范围分别为 0.720~0.786 和 0.110~0.144, 甚至高于无污染组 (处理 P)。说明施用氮肥能显著缓解 CIP 对叶绿素的抑制作用, 促进叶片光合作用的进行, 进而促进植物生长。其结果与李维等^[38]的实验结果一样, 施氮肥有效提高茶叶中叶绿素 a、b 含量。魏花朵等^[39]表明氮肥有效地缓解 Cd 胁迫对结缕草叶片光合系统的损害, 促进植物叶片叶绿素的合成。这可能是由于氮肥中的氮素有助于保持叶绿素含量的平衡, 促进 Cd 胁迫下类囊体膜蛋白复合体的组装和稳定, 增强水的光解和电子传递的速率^[40-41], 提高光能的捕获和转换能力, 从

而降低叶绿体受到污染物胁迫的毒害作用。不同形态氮肥对菜心叶片中叶绿素含量的影响不同，其中施加酰胺态氮和硝态氮显著提高了菜心叶片中叶绿素 a 和叶绿素 b 含量，即酰胺态氮（叶绿素 a: 0.765 ± 0.079 ，叶绿素 b: 0.144 ± 0.023 ），硝态氮（叶绿素 a: 0.786 ± 0.021 ，叶绿素 b: 0.137 ± 0.007 ）。这与卞赛男等^[42]的实验结果相似，硝态氮处理下叶绿素相对含量高于铵态氮处理。不同形态氮肥对叶绿素含量的影响差异可能是不同氮素形态对光合作用电子传递、光能捕获和转换能力等协调能力差异导致^[43]。菜心叶片中叶绿素（a 和 b）含量差异直接导致植物生长的差异，从而影响菜心对 CIP 吸收累积能力的差异。

2.4 荧光动力学曲线

当光合系统受到污染物胁迫时，其叶片叶绿素在叶绿体光合系统 II（PS II）供体侧、受体侧化合物氧化还原状态和电子传递过程受到影响^[44]，导致叶绿体荧光曲线发生相应改变。叶片避光处理后的最小的初始荧光值是 F_0 值，当该值显著增加时，PS II 反应中心易受影响。叶片暗反应后最大荧光值是 F_m 值，当 F_m 值显著降低时，说明光合作用电子传递链受体侧受到严重损伤。

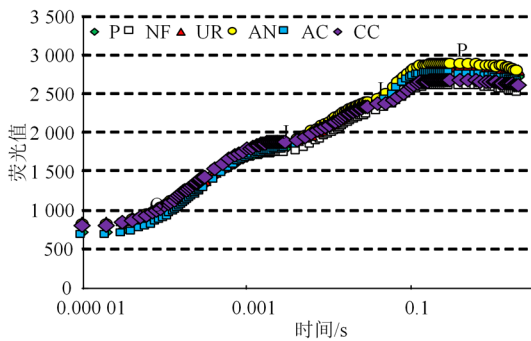


图 4 不同形态氮肥处理下菜心叶绿素快速荧光动力学曲线
Figure 4 Differences of the OJIP chlorophyll a fluorescence transients in Chinese flowering cabbage under different forms of nitrogen fertilization treatment

与无污染组相比，施加环丙沙星后其荧光值 F_0 上升， F_m （叶片暗反应后最大值）下降（图 4），此时 PS II 中电子传递链受体受到严重损伤，说明 CIP 干扰或破坏菜心光合作用电子传递过程^[21, 44]。施加氮肥后，与污染组（NF）相比， F_m 均呈现上升趋势，且在 OJIP 荧光动力学曲线均表现为在 O 相 F_0 值和 P 相 F_m 值呈现上升的趋势，说明在氮肥能有效缓解 CIP 对菜心叶片 PS II 中电子传递链的干扰和破坏。在不同氮肥形态处理下，在 OJIP 荧光动力学曲线均表现为在 O 相 F_0 值和 P 相 F_m 值呈现上升

的趋势，其增幅总体随氮肥形态而不同，其硝态氮处理下最大，且 F_m 值最高，其次分别为酰胺态氮、铵态氮、氰铵态氮，说明荧光动力学参数表明硝态氮和酰胺态氮能阻碍 CIP 抑制菜心的光合作用活性主要是降低初级光化学过程损伤，进而能显著促进菜心的光合作用性能。

为更深入解析不同氮肥形态对叶绿体光合作用的影响，通过从 OJIP 动力学曲线中推导菜心叶片光合系统 II (PS II) 的 15 个生物物理学参数行为(图 5)。不同形态氮肥对菜心叶片叶绿素荧光参数影响不同，其中最终受体 PSI 中单位横截面积电子受体的减少值 (RE_0/CS_0)、基于叶片横截面光合性能参数 ($Pics$)、单位叶片横截面电子传递通量 (ET_0/CS_0)、电子传递链还原势 (Sm) 和基于反应中心的光合性能参数 ($Plabs$) 总体比对照相关参数值高，该结果表明氮肥的施加会增强光合系统中能量吸收、光能捕获或 QA 电子转移，且酰胺态氮肥与硝态氮肥处理相对其他形态氮肥处理对叶片叶绿素荧光参数增幅较为显著，说明酰胺态氮和硝态氮增强了菜心光合系统中电子转移链活性，增加叶片横截面电子传递通量的效果最为明显，同时且 Sm 值表明硝态氮和酰胺态氮减弱了 CIP 对菜心叶片总电子受体容量的胁迫，该容量是衡量 PS II 和 PS I 受体侧间电子转移量的重要标准^[45]。

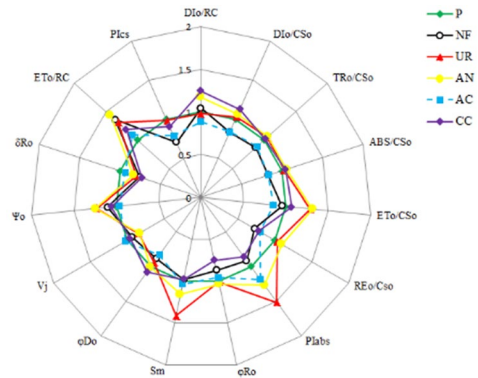


图 5 不同形态氮肥处理下菜心相关 OJIP 参数的蛛网图
Figure 5 Arachnogram of OJIP parameters related to Chinese flowering cabbage under different forms of nitrogen fertilizer treatment

2.5 菜心中 CIP 含量特征

不施用氮肥处理中菜心地上部中 CIP 含量为 $191.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，当施用氮肥后，菜心地上部中 CIP 含量均显著降低，其比对照组降 20.7%~62.0%（图 6(a)）。说明氮肥显著降低了菜心地上部对 CIP 的累积。在不同形态氮肥处理下，菜心地上部中 CIP 含量依次为酰胺态氮 ($72.7 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) < 铵态氮 ($92.7 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) < 硝态氮 ($131.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) < 氰氨态氮 (151.5

$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。说明不同形态氮肥对作物吸收累积污染物的影响不同, 王朋超^[46]也发现中高浓度的酰胺态氮肥能使水稻籽粒中 Cd 含量降低 66.27%。Jalloh 等^[36]发现不同形态氮肥处理下水稻中 Cd 含量大小依次为铵态氮<酰胺态氮<硝态氮, 然而小白菜可食部分

中 Cd 含量大小却出现相反的规律^[47], 即铵态氮>酰胺态氮>硝态氮。尽管不同形态氮肥对植物积累污染物的影响结果并不一致, 但表明了氮肥形态可以对植物吸收污染物含量产生较大的影响。

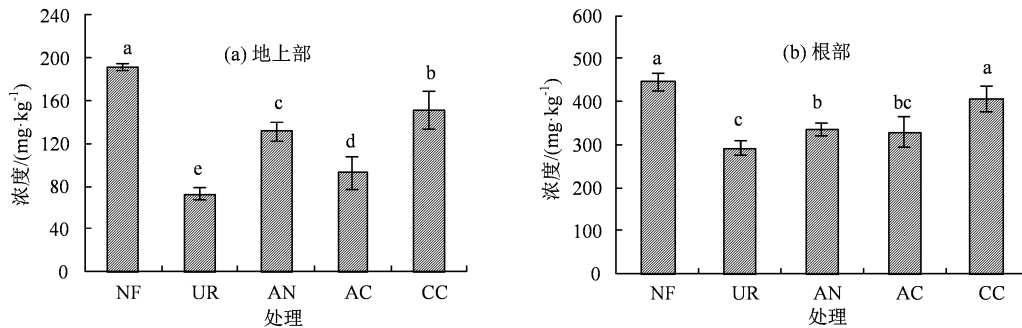


图 6 不同形态氮肥处理下菜心地上部和根部 CIP 含量

Figure 6 Concentrations of CIP in *Brassica parachinensis* L. shoot and root under different forms of nitrogen fertilization treatment

表 1 不同处理下菜心对 CIP 的富集系数和转移系数

Table 1 BCFs and TFs of *Brassica parachinensis* L. for CIP under different forms of nitrogen fertilization treatment

处理	CIP 含量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$		生物富集系数(BCF)/%		转运系数(TF)/%
	地上部	根部	地上部	根部	
NF	191.11 ^a	446.05 ^a	1.18 ^a	2.75 ^a	42.84 ^a
UR	72.68 ^e	291.29 ^c	0.54 ^e	2.17 ^b	24.95 ^b
AN	131.06 ^c	336.98 ^b	0.83 ^b	2.13 ^b	38.89 ^a
AC	92.67 ^d	329.50 ^{bc}	0.61 ^c	2.15 ^b	28.12 ^b
CC	151.53 ^b	406.10 ^a	1.08 ^a	2.88 ^a	37.31 ^a

注:不同小写字母表示 CIP 胁迫对不同氮肥处理下菜心生物量的差异显著 ($P < 0.05$)。

不施用氮肥处理中菜心根部 CIP 含量为 $446.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 当施用氮肥后, 根部中 CIP 含量均显著降低, 其比对照组降低 8.97%~34.7%。不同形态氮肥处理下, 根系中 CIP 含量特征与地上部中含量特征相似, 即酰胺态氮 ($291.3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) < 铵态氮 ($329.5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) < 硝态氮 ($337.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) < 氰氨态氮 ($406.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。由此可见, 氮肥能降低菜心组织中 CIP 的残留, 特别是酰胺态氮肥能显著降低菜心地上部 and 根部中 CIP 的含量。前面研究发现酰胺态氮肥处理下菜心具有更高的生物量 (图 1), 这表明该处理下菜心对 CIP 具有更高的“容量”, 进一步说明酰胺态氮肥具有更大的 CIP 修复潜能。

通过对菜心生物富集系数 (BCF) 和转运系数 (TF) 进行分析, 结果发现与未施加氮肥相比, 施加 4 种氮肥均降低了根部 BCF (除氰氨态氮外) 和茎叶 TF (表 1), 与对照相比最高分别降低 25% 和 41.7%, 说明施肥可抑制 CIP 在菜心根系吸收和茎叶转运能力。这一结果在课题组 Meng 等^[12]前期的另外一篇报道中已被证实。将不同形态氮肥处理下根部 BCF 进行对比, 除氰氨态氮处理下的 BCF 与

对照相比无显著差异, 其他 3 种形态氮肥处理下 BCF 均显著低于对照, 且这 3 种处理之间无显著差异。4 种形态氮肥处理下 TF 均显著低于对照, 其中酰胺态氮和铵态氮处理下 TF 显著低于硝态氮和氰氨态氮处理。由此可见, 不同形态氮肥处理对菜心吸收和转运 CIP 能力的影响不同, 其中同时显著降低 BCF 和 TF 的处理为酰胺态氮和铵态氮。这一结果与杨锚等^[48]和 Zhan 等^[49]的研究结果一致, 施用酰胺态氮和铵态氮肥显著降低水稻土中镉的转运及减少小麦和莠苣对镉的富集系数和转运系数。

导致 BCF 和 TF 差异的原因可能是由于不同形态氮肥对土壤理化性质的影响不同, 从而导致了污染物在土壤中的赋存状态及植物生长的差异, 最终影响了污染物在植物体内的吸收和转运^[50]。前面讨论中发现不同形态氮肥对植物的光合作用影响不同, 植物的光合作用过程与污染物的吸收和累积有着密切联系, Zhao 等^[22]表明光合作用增强能提高菜心对 DBP 的耐受性, 同时促进菜心对 DBP 的吸收累积作用。同时, 有研究表明酰胺态氮肥能显著降低水稻叶片的叶片气孔导度和根系传导率, 从而降

低水稻光合作用速率, 进而通过降低蒸腾速率抑制水稻对 Cd 的吸收转运过程^[51]。前面研究发现酰胺态氮肥能显著促进菜心的光合作用性能(图 4 和 5), 但该处理下对降低菜心中 CIP 的 BCF 和 TF 最为显著(表 1), 这表明酰胺态氮肥对菜心吸收和转运 CIP 的影响机制与重金属的影响机制并不一致, 这需要在后期实验中深入研究。此外, 分子调控机制也可能是造成不同形态氮肥对菜心吸收累积 CIP 差异的原因之一, 例如, NO₃⁻能够刺激贴转运基因(LeIRT1)在番茄(*Solanum lycopersicum*)中的表达, 进而促进了 Cd 的积累^[52]。也有研究发现酰胺态氮肥参与水稻根部 *OsNramp1* 和 *OSHMA2* 基因对 Cd 吸收和积累的调控, 同时通过调控 *OsNramp5* 基因来控制水稻对 Cd 的吸收和转运^[53]。然而目前并没有获取更多的数据来支撑这一观点, 这有待于后期进一步深入研究。

3 讨论与结论

不同形态氮肥对 CIP 暴露下的菜心生理生化产生显著影响, 特别是酰胺态氮肥对菜心的生物量、硝酸还原酶活性、叶绿素含量。

施加氮肥能促进光合作用电子传递过程和提高叶片光合作用性能, 进而促进作物生长, 其中酰胺态氮肥对菜心光合作用的影响最为显著。

施加氮肥可以降低菜心对 CIP 的吸收和转运, 酰胺态氮(尿素)和铵态氮(氯化铵)能有效降低菜心对 CIP 的吸收累积。

参考文献:

- [1] GOMES M P, GONÇALVES C A, DE BRITO J C M, et al. Ciprofloxacin induces oxidative stress in duckweed (*Lemna minor* L.): Implications for energy metabolism and antibiotic-uptake ability[J]. *J Hazard Mater*, 2017, 328: 140-149.
- [2] 孔晨晨, 张世文, 聂超甲, 等. 农用地土壤抗生素组成特征与积累规律[J]. *环境科学*, 2019, 40(4): 1981-1989.
- [3] ZHANG Q Q, YING G G, PAN C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. *Environ Sci Technol*, 2015, 49(11): 6772-6782.
- [4] VAN EPPS A, BLANEY L. Antibiotic residues in animal waste: occurrence and degradation in conventional agricultural waste management practices[J]. *Curr Pollut Rep*, 2016, 2(3): 135-155.
- [5] 迟菡琳, 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] 吴颖, 黄魁, 夏慧, 等. 污泥四环素含量对蚯蚓堆肥中氨氧化菌群的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(6): 2954-2960.
- [7] 吴小莲, 莫测辉, 李彦文, 等. 蔬菜中喹诺酮类抗生素污染探查与风险评价: 以广州市超市蔬菜为例[J]. *环境科学*, 2011, 32(6): 1703-1709.
- [8] WU X L, XIANG L, YAN Q Y, et al. Distribution and risk assessment of quinolone antibiotics in the soils from organic vegetable farms of a subtropical City, Southern China[J]. *Sci Total Environ*, 2014, 487: 399-406.
- [9] PARK S B, KIM S J, KIM S C. Evaluating plant uptake of veterinary antibiotics with hydroponic method[J]. *Korean J Soil Sci Fertil*, 2016, 49(3): 242-250.
- [10] AZANU D, JØRGENSEN S E, DARKO G, et al. Antibiotic uptake by plant model[J]. *Environ Model Assess*, 2020, 25(4): 545-553.
- [11] FARKAS M H, BERRY J O, AGA D S. Chlortetracycline detoxification in maize via induction of glutathione S-transferases after antibiotic exposure[J]. *Environ Sci Technol*, 2007, 41(4): 1450-1456.
- [12] MENG C, HUAN D, ZHAO H M, et al. Nitrate supply decreases uptake and accumulation of ciprofloxacin in *Brassica parachinensis*[J]. *J Hazard Mater*, 2021, 403: 123803.
- [13] HUSSAIN M, CHEEMA S A, ABBAS R Q, et al. Choice of nitrogen fertilizer affects grain yield and agronomic nitrogen use efficiency of wheat cultivars[J]. *J Plant Nutr*, 2018, 41(18): 2330-2343.
- [14] 杜永成, 王玉波, 范文婷, 等. 不同氮素水平对甜菜硝酸还原酶和亚硝酸还原酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2012, 18(3): 717-723.
- [15] WILLAERT G, VERLOO M. Effects of various nitrogen fertilizers on the chemical and biological activity of major and trace elements in a cadmium contaminated soil[J]. *Pédologie*, 1992, 42(1): 83-91.
- [16] 肖云华, 赵雪玲, 王康才, 等. 不同氮素形态和浓度对大青叶生物量与生物碱类成分的影响[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(17): 2755-2760.
- [17] 吴小莲. 环丙沙星(CIP)高、低累积菜心根际特性及其吸收累积影响机制研究[D]. 广州: 暨南大学, 2017.
- [18] ZHAO H M, XIANG L, WU X L, et al. Low-molecular-weight organic acids correlate with cultivar variation in ciprofloxacin accumulation in *Brassica parachinensis* L.[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10301.
- [19] 吴小莲, 向垒, 莫测辉, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱测定蔬菜中喹诺酮类抗生素[J]. *分析化学*, 2013, 41(6): 876-881.
- [20] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [21] SINGH-TOMAR R, JAJOO A. Alteration in PS II heterogeneity under the influence of polycyclic aromatic hydrocarbon (fluoranthene) in wheat leaves (*Triticum aestivum*)[J]. *Plant Sci*, 2013, 209: 58-63.
- [22] ZHAO H M, DU H, XIANG L, et al. Physiological differences in response to di-n-butyl phthalate (DBP) expo-

- sure between low- and high-DBP accumulating cultivars of Chinese flowering cabbage (*Brassica parachinensis* L.)[J]. Environ Pollut, 2016, 208: 840-849.
- [23] SHI G R, CAI Q S. Cadmium tolerance and accumulation in eight potential energy crops[J]. Biotechnol Adv, 2009, 27(5): 555-561.
- [24] EGGEN T, ASP T N, GRAVE K, et al. Uptake and translocation of metformin, ciprofloxacin and narasin in forage-and crop plants[J]. Chemosphere, 2011, 85(1): 26-33.
- [25] BÁRTÍKOVÁ H, PODLIPNÁ R, SKÁLOVÁ L. Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants[J]. Chemosphere, 2016, 144: 2290-2301.
- [26] 耿春女, 朱永官, 罗启仕. 水稻基因型(94D-64)中磷对砷解毒生理机理的研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1302-1306.
- [27] 胥生荣. 干旱区土壤环境调控对枸杞水分吸收利用的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020.
- [28] 代新俊, 杨珍平, 陆梅, 等. 不同形态氮肥及其用量对强筋小麦氮素转运、产量和品质的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(5): 710-720.
- [29] 周文利. 不同形态氮素对丹参苗期生长及养分吸收的影响[J]. 中药材, 2019, 42(2): 260-263.
- [30] COSKUN D, BRITTO D T, SHI W, et al. How plant root exudates shape the nitrogen cycle[J]. Trends Plant Sci, 2017, 22(8): 661-673.
- [31] 颜昌宙, 郭建华. 氮肥管理对植物镉吸收的影响[J]. 生态环境学报, 2020, 29(7): 1466-1474.
- [32] 孙常青, 杨艳君, 郭志利, 等. 施肥和密度对杂交谷可溶性糖、可溶性蛋白及硝酸还原酶的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(5): 1169-1177.
- [33] JIN C W, DU S T, SHAMSI I H, et al. NO synthase-generated NO Acts downstream of auxin in regulating Fe-deficiency-induced root branching that enhances Fe-deficiency tolerance in tomato plants[J]. J Exp Bot, 2011, 62(11): 3875-3884.
- [34] XIONG J, FU G, TAO L, et al. Roles of nitric oxide in alleviating heavy metal toxicity in plants[J]. Arch Biochem Biophys, 2010, 497(1/2): 13-20.
- [35] XIE H L, JIANG R F, ZHANG F S, et al. Effect of nitrogen form on the rhizosphere dynamics and uptake of cadmium and zinc by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*[J]. Plant Soil, 2009, 318(1/2): 205-215.
- [36] JALLOH M A, CHEN J, ZHEN F, et al. Effect of different N fertilizer forms on antioxidant capacity and grain yield of rice growing under Cd stress[J]. J Hazard Mater, 2009, 162(2/3): 1081-1085.
- [37] 雷振生, 林作楫, 杨会民, 等. 黄淮麦区高产小麦品种的产量结构及其生理基础的研究[J]. 华北农学报, 1996, 11(1): 70-75.
- [38] 李维, 向芬, 周凌云, 等. 氮素减施对茶树光合作用和氮肥利用率的影响[J]. 生态学杂志, 2020, 39(1): 93-98.
- [39] 魏花朵, 李悦, 陈忠林, 等. 氮肥对镉胁迫下结缕草光合和叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2015(4): 88-92.
- [40] 谭长强, 黄志玲, 彭玉华, 等. Cd 胁迫下施 N 对台湾栾木(*Alnus formosana*)干物质及 N、P、K、Cd 积累与分配的影响[J]. 生态学杂志, 2017, 36(7): 1847-1854.
- [41] 杨容子, 刘柿良, 宋会兴, 等. 不同氮形态对龙葵镉积累、抗氧化系统和氮同化的影响[J]. 生态环境学报, 2016, 25(4): 715-723.
- [42] 卞赛男, 常鹏杰, 王宁杭, 等. 氮素形态对喜树叶片生长、叶绿素荧光参数及叶绿体相关基因表达的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2019, 36(5): 908-916.
- [43] 孙敏红. 不同氮素形态对枳椇幼苗氮素吸收、转运及分子机理研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2017.
- [44] LAZÁR D. The polyphasic chlorophyll a fluorescence rise measured under high intensity of exciting light[J]. Funct Plant Biol, 2006, 33(1): 9-30.
- [45] PINIOR A, GRUNEWALDT-STÖCKER G, VON ALTEN H, et al. Mycorrhizal impact on drought stress tolerance of rose plants probed by chlorophyll a fluorescence, proline content and visual scoring[J]. Mycorrhiza, 2005, 15(8): 596-605.
- [46] 王朋超. 施用不同无机肥对镉污染农田土壤钝化修复效应影响研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [47] 范士凯. 脱落酸应用和氮素形态降低植物镉积累的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [48] 杨锚, 王火焰, 周健民, 等. 不同水分条件下几种氮肥对水稻土中外源镉转化的动态影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(5): 1202-1207.
- [49] ZHAN X, YUAN J, YUE L, et al. Response of uptake and translocation of phenanthrene to nitrogen form in lettuce and wheat seedlings[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2015, 22(8): 6280-6287.
- [50] 霍文敏. 不同间作模式及施肥处理对玉米吸收 Cd 的影响研究[D]. 北京: 中国地质大学(北京), 2019.
- [51] SHANG H Q, SHEN G M. Effect of ammonium/nitrate ratio on pak choi (*Brassica chinensis* L.) photosynthetic capacity and biomass accumulation under low light intensity and water deficit[J]. Photosynthetica, 2018, 56(4): 1039-1046.
- [52] LUO B F, DU S T, LU K X, et al. Iron uptake system mediates nitrate-facilitated cadmium accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants[J]. J Exp Bot, 2012, 63(8): 3127-3136.
- [53] 杨永杰. 氮肥形态与用量对水稻镉积累和毒害的影响及调控机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.