

# 土壤中抗生素的生态毒性及其分子生物标志物技术的研究进展

崔皓, 王淑平\*

中国科学院研究生院资源与环境学院, 北京 100049

**摘要:** 抗生素作为抑菌或杀菌药物被广泛应用于畜禽养殖中。不能完全被机体吸收的抗生素经由畜禽排泄物直接进入环境。随着耐药基因和超级病菌的出现, 抗生素产生的环境问题引起了广泛关注。土壤是环境中抗生素最主要的累积场所之一, 对土壤中抗生素的生态毒性及其分子生物指示指标的研究具有重要意义。本文在总结国内外相关研究的基础上, 阐述了抗生素对土壤中微生物、动物和植物所产生的毒性以及分子生物标志物在土壤抗生素污染研究中的应用, 并对未来的研究工作进行了展望。

**关键词:** 抗生素; 土壤环境; 生态毒性; 分子生物标志物

文章编号: 1673-5897(2012)2-113-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Review on Ecotoxicity of Antibiotics and Its Molecular Biomarkers in Soils

Cui Hao, Wang Shuping\*

College of Resources and Environment, Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Received 31 October 2011 accepted 22 November 2011

**Abstract:** Antibiotics were widely used as drugs in stockbreeding. The unabsorbed antibiotics by animals excreted into the environment via excrements. Environmental issue of antibiotic residues is paid attention in the presence of antibiotic resistant genes and resistant bacteria. Since soil is one of the most important sink sites of antibiotics in the environment, it is significant to investigate the ecotoxicity and molecular biomarkers of antibiotics in soils. This paper reviewed the toxicity of antibiotics in soils to microbes, animals and plants, and application of molecular biomarkers on antibiotics in soils. On these bases, the future research fields were prospected.

**Keywords:** antibiotic; soil environment; ecotoxicity; molecular biomarker

在过去 30 多年中, 对于环境中有毒污染物的研究主要集中在剧毒、致癌性农药和持久性污染物上。随着科技的发展和人们生活水平的提高, 药品和个人护理用品 (PPCPs) 的使用量和使用种类逐年增加, PPCPs 对生态环境以及人类健康的影响也越来越引起公众的关注。近 10 年来, 国内外学者已开始关注 PPCPs 对环境的污染以及对生物的毒害效应<sup>[1]</sup>, 其中抗生素的滥用所产生的潜在环境污染,

近年来在欧美等国引起了广泛关注。

抗生素是世界上使用量最大、应用最广泛的药物之一, 全球抗生素年均使用总量为 10 ~ 20 万 t。其中兽用抗生素占抗生素总使用量的 70% 以上<sup>[2]</sup>, 主要应用于畜牧业、禽类饲养以及渔业养殖<sup>[3-4]</sup>。大部分抗生素不能完全被机体吸收, 有高达 90% 的抗生素以原形或代谢物形式经由病人和畜禽排泄物进入环境<sup>[3]</sup>。一些代谢产物仍具有生物活性, 并通

收稿日期: 2011-10-31 录用日期: 2011-11-22

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KZCX2-EW-QN606) 和国家自然科学基金项目 (40771215)

作者简介: 崔皓 (1987-) 男, 硕士研究生, 研究方向: 土壤生态学; E-mail: cuihao0087@sina.com;

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: wshuping@gucas.ac.cn

过不同途径对环境造成污染<sup>[5]</sup>。抗生素暴露于环境中,对土壤和表层水体等生态环境带来不良影响,并通过食物链对生态环境产生毒害作用,影响植物、动物和微生物的正常生命活动,特别是影响人类的健康。因此,抗生素对环境的影响不容忽视。土壤是环境中抗生素最主要的归趋之一,抗生素及其代谢产物在土壤环境中能保持很长时间的活性,对土壤中的微生物、动物和植物均产生不同程度的影响。目前,对于土壤中抗生素的研究主要集中在其物理和化学过程,包括吸附、迁移和降解等<sup>[6-9]</sup>,而关于抗生素对生态环境所产生的影响则知之甚少。本文对近年来有关土壤中抗生素对生态环境毒性的研究作简要论述,以引起人们对抗生素的生态毒理和环境影响的关注和重视,为开展相关领域的研究提供思路。

## 1 土壤中抗生素来源和残留现状

### 1.1 土壤中抗生素来源

土壤中抗生素的来源主要有3方面:1)含有抗生素的畜禽粪便作为肥料直接施入土壤;2)使用污水处理厂的出水和污泥作为农业灌溉用水和肥料;3)医院丢弃以及生产过程中损失和废弃的抗生素。其中,未经处理的畜禽粪便作为有机肥农用是抗生素进入土壤环境的主要途径之一<sup>[10-11]</sup>。

目前,在畜禽粪便中已经检测到了高含量的抗生素残留。Martínez-Carballo等<sup>[12]</sup>对奥地利动物粪便中的抗生素进行了监测,结果表明,猪粪中的金霉素、土霉素和四环素含量分别为46、29和23 mg·kg<sup>-1</sup>;猪粪中磺胺二甲嘧啶和鸡粪中磺胺嘧啶的最大含量分别为20和91 mg·kg<sup>-1</sup>;鸡粪中恩诺沙星和环丙沙星的含量分别为8.3和0.37 mg·kg<sup>-1</sup>。De Liguoro等<sup>[13]</sup>发现粪便中土霉素含量可高达871.7 mg·kg<sup>-1</sup>。Karci等<sup>[14]</sup>研究了土耳其动物粪便中的抗生素残留,发现家禽粪便中磺胺氯哒嗪和磺胺甲噁唑的含量分别为35.53和3.76 mg·kg<sup>-1</sup>。经过处理的养猪场有机肥料中磺胺类药物含量为3.5 mg·kg<sup>-1</sup>,四环素类药物含量达到4 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[15-16]</sup>。鲍艳宇<sup>[17]</sup>在肉猪粪和肉鸡粪中分别检测到金霉素含量为879.58和94.71 mg·kg<sup>-1</sup>。张树清等<sup>[18]</sup>对我国7省、市、自治区的典型规模化养殖场畜禽粪便中主要成分的分析结果表明,猪粪中土霉素平均含量为9.09 mg·kg<sup>-1</sup>,最高达134.75 mg·kg<sup>-1</sup>,四环素平均含量为5.22 mg·kg<sup>-1</sup>,最高为78.57 mg·kg<sup>-1</sup>,金霉素平均含量为3.57 mg·kg<sup>-1</sup>,最高为121.78 mg·kg<sup>-1</sup>。

由于目前的污水处理方式不能彻底去除水中的抗生素,因此利用污水处理厂的出水进行农业灌溉也是抗生素进入土壤的一个途径。相关报道显示,欧洲污水处理厂出水中环丙沙星、氧氟沙星和三甲氧苄二氨嘧啶的最高检出浓度分别为3.4、13和1.9 μg·L<sup>-1</sup><sup>[19]</sup>。Golet等<sup>[20]</sup>的监测结果表明,三级处理出水中环丙沙星和诺氟沙星的浓度分别为45和120 ng·L<sup>-1</sup>。Lindberg等<sup>[21]</sup>发现污水处理厂的反应污泥和脱水污泥中诺氟沙星含量分别为11和3 mg·kg<sup>-1</sup>,环丙沙星含量分别为12和2.6 mg·kg<sup>-1</sup>。

### 1.2 土壤中抗生素残留现状

目前,土壤中已经被检测到的抗生素残留浓度范围为μg·kg<sup>-1</sup>级到mg·kg<sup>-1</sup>级不等。Campagnolo等<sup>[22]</sup>检测到土壤中抗生素类兽药含量为10 μg·kg<sup>-1</sup>。Hamscher等<sup>[15]</sup>研究了多年施用养猪场粪尿土壤中抗生素的含量,结果表明,四环素在0~10 cm土壤中含量为86.2 μg·kg<sup>-1</sup>,10~20 cm土壤中含量为198.7 μg·kg<sup>-1</sup>,20~30 cm土壤中含量为171.7 μg·kg<sup>-1</sup>,金霉素在0~30 cm土壤中平均含量为4.6~7.3 μg·kg<sup>-1</sup>;丹麦试验站施用养殖场液体粪便的农业土壤中金霉素含量为15.5 μg·kg<sup>-1</sup>,泰乐菌素为57.4 μg·kg<sup>-1</sup>。据Morales-Muñoz等<sup>[23]</sup>报道,在西班牙施用养殖场禽畜粪便的土壤中,诺氟沙星和环丙沙星的含量分别为9.8和5.8 mg·kg<sup>-1</sup>。Sarmah等<sup>[24]</sup>在德国土壤中检测到四环素类抗生素的含量为450~900 μg·kg<sup>-1</sup>。

此外,有报道指出,部分地区土壤中抗生素含量已达到较高水平。Hamscher等<sup>[15]</sup>报道,在用动物排泄物施肥的0~40 cm表层土壤中,检测到了土霉素和氯四环素的残留最大浓度分别为32.3和26.4 mg·kg<sup>-1</sup>。Aga等<sup>[25]</sup>研究发现,将含有抗生素的粪便施入土壤22 d后,0~5 cm土壤中四环素类抗生素及其代谢产物总含量为281.34 μg·kg<sup>-1</sup>。在我国,检测到土壤中含有土霉素可高达200 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[26]</sup>,在水产养殖场的沉积物中土霉素含量可高达285 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[27]</sup>。与国外相比,我国土壤中四环素类抗生素的残留量高于其他国家,这可能与此类抗生素的使用量大和使用范围广有密切关系。

## 2 土壤中抗生素的生态毒理效应

### 2.1 对土壤微生物的毒性

抗生素进入土壤后,能直接杀死土壤环境中某些微生物或抑制其生长,尤其是对细菌的作用最为显著。残留的抗生素可以影响微生物群落的组成,

粪便和土壤中有机的腐烂和分解,土壤肥力,并同时降低土壤微生物对其他污染物的固定或降解能力。

抗生素对微生物产生各种毒性效应,影响微生物活性和群落功能多样性。Kong 等<sup>[28]</sup>将从土壤中提取的微生物群落暴露于含有土霉素的无菌生理盐水后,土壤微生物活性随土霉素浓度升高显著降低;浓度为  $11 \mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$  时土霉素对土壤微生物群落功能多样性的抑制率达到 20%,浓度为  $43 \mu\text{M}\cdot\text{L}^{-1}$  时抑制率达到最大,而随着土霉素浓度的继续增加抑制率反而略有下降。Thiele-Bruhn 等<sup>[29]</sup>研究表明,当土壤中磺胺嘧啶的残留达  $3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,即可导致土壤微生物对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力降低 50%。刁晓平等<sup>[30]</sup>报道,安普霉素处理土壤后,土壤细菌的生长受到明显的抑制,24 h 内细菌受抑制率接近 100%。张跃华等<sup>[31]</sup>研究表明,不同浓度的阿维菌素对土壤微生物种群数量有一定抑制作用。当菌液浓度达  $125 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  以上时,阿维菌素对土壤中细菌、放线菌和真菌生长速率有明显的抑制作用,且对不同菌属其抑制浓度有所差异。Boleas 等<sup>[32]</sup>报道,土壤中氯霉素的存在可使土壤中微生物降解牛粪的时间延长。崔丽娜等<sup>[33]</sup>研究发现,不同浓度四环素均可对土壤中细菌和真菌产生显著的抑制作用,而对放线菌的抑制作用没有细菌明显;四环素对细菌和真菌数量的最大抑制率分别高达 95.39% 和 66.86%,对土壤微生物量碳的抑制率最大为 93.75%。汤玮婧等<sup>[34]</sup>研究表明,施入土霉素后,细菌数目随药物浓度的增加数目整体呈减少趋势,放线菌数目整体呈上升趋势;在不同土霉素浓度的作用下,碱性磷酸酶活性明显降低,对脱氢酶略有影响,对脲酶则影响不大。王加龙等<sup>[35]</sup>研究表明,较低浓度的恩诺沙星残留不影响土壤微生物群落功能多样性,而相对较高浓度的恩诺沙星残留则能够降低其微生物群落功能多样性。姚建华等<sup>[36]</sup>通过根箱模拟栽培法研究了抗生素土霉素对小麦根际土壤酶活性的影响。结果表明,加入土霉素可以显著降低小麦根区、近根区和远根区土壤脲酶、蔗糖酶(根区除外)、磷酸酶和过氧化氢酶活性;土霉素显著降低小麦根际的微生物生物碳含量以及微生物碳氮比,且随着距根表距离的增加,其影响作用逐渐减弱。

抗生素同时会影响土壤微生物的呼吸。Zielezny 等<sup>[37]</sup>研究发现,在没有外加碳源的情况下,磺胺嘧啶和金霉素对土壤呼吸和细菌种群结构并无

显著影响,但在加入葡萄糖的土壤中,磺胺嘧啶和金霉素对土壤呼吸和细菌种群结构则能够产生显著的抑制性。刘锋等<sup>[38]</sup>测定了抗生素对水稻土土壤微生物呼吸的影响。结果表明,磺胺甲噁啶、磺胺甲噁唑、氯四环素、四环素、泰乐菌素和甲氧苄啶对土壤呼吸的最大抑制率分别为 34.33%、34.43%、2.71%、3.08%、7.13% 和 38.08%,其中以磺胺甲噁唑和甲氧苄啶对土壤呼吸影响最大,同时表现出很好的剂量依赖效应。马驿等<sup>[39]</sup>用 BIOLOG 检测法比较了不同浓度恩诺沙星影响下土壤微生物的群落特征。结果表明,加药组土壤微生物的丰富度指数和多样性指数显著低于空白对照组,且药物浓度越高丰富度和多样性越小;而随着药物作用的时间延长,药物含量  $0.01 \sim 1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组中土壤微生物群落代谢功能多样性与空白对照组之间的差异变小。刁晓平等<sup>[40]</sup>研究表明,在有机质含量丰富的砂壤土中,抗生素对微生物呼吸有促进作用;而在有机质较少的土壤中则表现出明显的抑制作用,并随抗生素含量的增加而增大。由于各种抗生素可能影响土壤微生物群落结构,因此应该谨慎使用各种兽药抗生素,对于抗生素环境风险研究应该深入开展。

## 2.2 对土壤动物的毒性

关于抗生素对土壤动物的毒性目前研究较少。Bagger 等<sup>[41]</sup>测试了土霉素和泰乐菌素对蚯蚓、跳虫和线蚓的毒性,发现土霉素和泰乐菌素在环境相应浓度下对蚯蚓等没有显著毒性,最低观察效应浓度是  $3000 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,而大多数情况下即使在最高测试浓度  $5000 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  下也未观察到有显著影响。刁晓平等<sup>[42]</sup>采用人工土壤法和滤纸法对不同浓度的阿维菌素、安普霉素和磺胺二甲嘧啶 3 种常用抗生素对蚯蚓的急性毒性进行了研究。结果表明,阿维菌素对蚯蚓具有一定的毒性作用,其皮肤接触毒性比土壤食入毒性更大;土壤法测定安普霉素和磺胺二甲嘧啶对蚯蚓的半数致死浓度( $\text{LC}_{50}$ )均大于  $5000 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,表明安普霉素和磺胺二甲嘧啶对蚯蚓的毒性较低。李银生等<sup>[43]</sup>采用自然土壤法研究氯霉素对蚯蚓的急性毒性,结果显示氯霉素对蚯蚓的半数致死浓度( $\text{LC}_{50}$ )为  $2440 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,这说明其对蚯蚓的急性毒性较低。王轶等<sup>[44]</sup>研究了莫能菌素对蚯蚓的生态毒理效应,发现莫能菌素含量达到  $50 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时显著影响蚯蚓的生存,死亡率达到 20%;莫能菌素含量为  $25 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时能够显著影响蚯蚓的生长,药物的染毒浓度与对蚯蚓生存和繁殖的抑

制存在明显的剂量-效应关系。染毒 21 d 后,低浓度的莫能菌素能显著影响蚯蚓体内超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽硫转移酶(GST)、腺三磷酸酶(ATPase)和乙酰胆碱酯酶(AChE)的活性,药物浓度和酶活性间具有明显的剂量-效应关系。高玉红等<sup>[45]</sup>检测暴露在喹乙醇中 14 d 后蚯蚓体和不同部位的过氧化氢酶(CAT)活性,发现高浓度喹乙醇能显著抑制蚯蚓体及其前部和中部过氧化氢酶的活性,低浓度喹乙醇则只对蚯蚓前部的过氧化氢酶活性表现出显著抑制。

### 2.3 对植物的毒性

研究表明,将含有抗生素药物的动物排泄物作为肥料施入土壤后,会影响到植物的生长发育,通过有机肥带入土壤的抗生素可能通过抑制幼苗分芽而影响植物生长。与大多数已研究较清楚的污染物相似,低浓度抗生素可促进植物生长,高浓度则抑制植物生长,但在不同土壤或生长基质上,抗生素对不同植物的影响差异非常大。抗生素对植物生长发育的影响取决于抗生素本身的化学性质、使用剂量、植物种类和土壤性质等因素。

Bradel 等<sup>[46]</sup>研究表明,100 ~ 1000 mg·L<sup>-1</sup>四环素的营养液可抑制一品红幼芽分枝,使一品红嫁接后单轴生长。Boxall 等<sup>[47]</sup>研究发现,土培条件下 1 mg·kg<sup>-1</sup>浓度土霉素、保泰松和恩诺沙星能够显著抑制胡萝卜和莴苣生长,而相同浓度的阿莫西林、磺胺嘧啶、泰乐菌素、甲氧苄啶和氟苯尼考等对这两种蔬菜生长没有影响。Farkas 等<sup>[48]</sup>研究表明,金霉素可以增强玉米中谷胱甘肽硫转移酶(GST)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性,但在斑豆中则并未观测到这一现象。王朋等<sup>[49]</sup>研究环丙沙星对玉米发芽率和幼苗生长的影响。结果显示,玉米对环丙沙星的吸收和传输随着暴露液中环丙沙星浓度的增加而上升。在 0.5 ~ 50 mg·L<sup>-1</sup>浓度范围内,环丙沙星不影响玉米的发芽率,但对幼苗的生长能够产生不同程度的抑制作用;环丙沙星暴露使玉米根和芽中脂质过氧化产物丙二醛(MDA)含量显著升高,根中谷胱甘肽硫转移酶(GST)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性均呈现低浓度下被激活而高浓度下被抑制的趋势。环丙沙星暴露条件下玉米根中羟基自由基含量显著上升,表明大量羟基自由基的产生是环丙沙星对玉米氧化损伤的重要原因。刘吉强等<sup>[50]</sup>研究了油菜种植条件下不同浓度的外源青霉素对土壤脲酶、转化酶和蛋白

酶等 3 种重要水解酶活性和油菜品质的影响。结果显示,青霉素对土壤转化酶和蛋白酶活性的抑制率最高分别为 69.43% 和 67.51%,酶活性的抑制程度及持续时间与处理浓度呈正相关;收获期时,油菜叶片中可溶性糖与蛋白质含量分别下降 78% ~ 86.2% 和 5.2% ~ 34.2%,且可溶性糖与蛋白质含量的降低程度与浓度成负相关。

Migliore 等<sup>[51-52]</sup>研究表明,土壤中抗生素类药物污染可以抑制植物种子发芽、根系和下胚轴以及叶片的生长。且随着污染的加重和时间的延长,抗生素对植物生长的影响加大。低浓度的恩诺沙星可以促进香瓜、莴苣、菜豆和萝卜 4 种植物的生长,高浓度则显著抑制这 4 种作物主根、胚轴和子叶的长度,降低叶片数量,其中对根的抑制效果最明显;而作用时间对恩诺沙星的毒性影响并不明显。和动物体内的降解过程相似,恩诺沙星在这 4 种植物体内也可被降解为环丙沙星,降解率大约为植物体内吸收量的 1/4。Kong 等<sup>[28,53]</sup>发现,紫花苜蓿吸收土霉素的过程为主动吸收,且主要累积在根部。土霉素主要通过影响紫花苜蓿根系生理过程显著抑制紫花苜蓿的生长,但是对紫花苜蓿吸收水分没有影响。当培养液中土霉素浓度高于 0.002 mmol·L<sup>-1</sup>时,土霉素即对紫花苜蓿生长产生显著的抑制作用。在 0.002 ~ 0.20 mmol·L<sup>-1</sup>浓度范围内,土霉素对紫花苜蓿茎和根生长的抑制率分别达 61% 和 85%。金彩霞等<sup>[54]</sup>研究了磺胺嘧啶钠和环丙沙星对小麦、白菜和番茄种子发芽、根伸长和芽伸长的影响,分析了两种抗生素和作物生长之间的剂量-效应关系,比较分析了小麦、白菜和番茄对两种抗生素的敏感性。结果表明,磺胺嘧啶钠对两种作物的毒性效应明显高于环丙沙星;根伸长抑制率和芽伸长抑制率与抗生素浓度显著相关,种子发芽抑制率与两种抗生素浓度不相关;3 种作物对磺胺嘧啶钠胁迫的敏感性依次为:小麦 > 白菜 > 番茄,对环丙沙星胁迫的敏感性依次为:白菜 > 番茄 > 小麦;磺胺嘧啶钠对 3 种作物的毒性效应明显强于环丙沙星。鲍艳宇等<sup>[55]</sup>在水溶液和土壤培养条件下测定了四环素和土霉素对小麦种子发芽、根伸长和芽伸长的影响。结果表明,在不同介质中,发芽率、根伸长和芽伸长对四环素和土霉素的生态毒性敏感顺序依次为根伸长 > 发芽率 > 芽伸长;小麦的根伸长抑制率(或芽伸长抑制率)与抗生素的浓度之间均存在明显的剂量-效应关系,四环素和土霉素在水溶液中对根伸长 10% 抑制浓度(IC<sub>10</sub>)分别为 25.

88 和  $24.22 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 在土壤中分别为  $377.80$  和  $717.60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; 水溶液中 50% 抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 值分别为  $583.9$  和  $469.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 而在土壤中分别为  $12\,709.0$  和  $14\,818.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。与水环境相比, 抗生素在土壤中需要很高的浓度才能产生毒害作用, 这是由于土壤对抗生素具有缓冲作用。

### 3 分子生物标志物在土壤抗生素污染中的应用

虽然生态系统各生物组分对污染物能从不同水平上进行响应, 但无论污染物对生态系统的影响多么复杂, 结果如何严重, 最早的作用必然是从分子水平上开始, 然后逐步在细胞、器官、个体、种群、群落和生态系统各个水平上反映出来<sup>[56]</sup>。将分子技术应用于抗生素污染土壤的生态毒理诊断研究, 能够建立更为精确和敏感的生态毒理指标和方法, 进行环境亚致死含量抗生素的生态毒性效应及危害的诊断。

生物标记物是指示环境暴露和有害效应的生物反应, 能显示分子或细胞水平的暴露-效应关系, 可直接揭示污染物在分子水平上的作用及由此引发的在细胞和个体水平上的破坏作用, 并能为环境污染物所造成的暴露或危害提供有效的检测手段。分子生物标志物的优点是可以灵敏地检测到环境中低剂量的潜在污染物, 并通过多项反应指标提供有关生态毒性的综合信息, 可用作污染的早期预警<sup>[57]</sup>。分子标记物不仅具有生物标志物的一般特征而且更为敏感, 很多污染物会导致代谢酶活性大幅变化, 基因表达异常以及 DNA 损伤等分子毒性机制的发生<sup>[58]</sup>。因此, 掌握污染物危害发生前生物标记物的状况可以探讨并预测更低剂量环境污染物对机体的长期影响及可能的潜在危害, 对于及时避免或减轻环境污染的损害具有重要意义。

#### 3.1 蛋白质

目前, 蛋白质分子标记物的研究热点主要包括几种代表性酶和热休克蛋白等。

细胞色素 P450 (CYP450) 为一类亚铁血红素-硫醇盐蛋白的超家族, 广泛分布于动物、植物和微生物体内, 参与内源性物质和外源性物质包括药物和环境化合物在内的代谢。CYP450 作为分子生物标志物广泛应用于毒理学研究中, 其与外源污染物毒性之间存在一定的响应关系。因此, 生物体内 CYP450 的含量或活性可以被用于环境污染的早期诊断, 进而阐明污染物的作用机制。

Laville 等<sup>[59]</sup>发现磺胺甲噁唑可以对虹鳟鱼肝细胞内 CYP450 家族酶系中 CYP1A 的活性产生选择性抑制作用, 而阿莫西林的抑制作用则不明显。Monari 等<sup>[60]</sup>研究了氯霉素暴露对鸡帘蛤的影响。结果表明, 暴露 8 d 后, 氯霉素可以显著抑制鸡帘蛤的 CYP1A 活性。Pinto 等<sup>[61]</sup>研究克拉霉素对人体肠壁细胞的影响, 发现克拉霉素对细胞中 CYP3A4 和 CYP3A5 的 mRNA 及蛋白质表达并没有产生显著影响, 但其代谢过程很可能形成了复杂的中间产物。Christen 等<sup>[62]</sup>研究了利福平对鲑鱼细胞 CYP3A 的影响。结果发现, 在利福平暴露条件下, 鲑鱼细胞中 CYP3A 的活性显著增加, 并具有很好的剂量依赖效应。

抗氧化防御系统是保护机体免受自由基和活性氧氧化损伤的屏障。污染物可以诱导生物内部生化反应产生变化。Monari 等<sup>[60]</sup>研究发现, 氯霉素可以使鸡帘蛤中的过氧化氢酶 (CAT) 活性处于较高水平, 并随着暴露时间延长而升高, 抗生素具有诱导产生大量活性氧自由基的能力。Wang 等<sup>[63]</sup>研究了恩诺沙星对鲑鱼的影响。结果显示, 恩诺沙星暴露可以导致鲑鱼脂质过氧化作用 (LPO) 紊乱和神经功能障碍; 同时, 不同养殖条件下恩诺沙星所产生的影响不同。低密度和高密度饲养条件下, 鱼鳃中脂质过氧化作用和 CAT 活性显著上升, 而中密度饲养条件下则显著下降; 低密度和高密度饲养条件下鲑鱼肌肉中乙酰胆碱酶 (AChE) 活性显著下降。姜蕾等<sup>[64]</sup>以铜绿微囊藻为试验材料, 研究了四环素暴露对其抗氧化酶活性的影响。结果显示, 铜绿微囊藻的抗氧化酶系统受到四环素的影响, 暴露 4 和 7 d 时, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性分别下降 30.36% ~ 35.92% 和 25.03% ~ 35.5%。聂湘平等<sup>[65]</sup>研究了诺氟沙星对小球藻生长及抗氧化酶活性的影响。结果表明, 诺氟沙星暴露对小球藻谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 和过氧化氢酶 (CAT) 具有显著影响, 当诺氟沙星浓度高于  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 小球藻 GST 活性受到显著诱导, 并随诺氟沙星浓度增加而显著升高; 而小球藻 CAT 活性随诺氟沙星暴露浓度的升高则表现出先诱导后抑制现象。诺氟沙星对谷胱甘肽 (GSH) 和 7-乙氧基-异吩唑酮-脱乙酰酶 (EROD) 的影响较弱。

除了上述的几种代表性酶, 蛋白质分子标记物的研究热点主要还有热休克蛋白 (heat shock protein, HSP)。热休克蛋白是生物受到环境中物理、化学和生物等刺激时发生应激反应而合成的蛋白

质,也被称作热激蛋白,是一类高度保守的蛋白质,普遍存在于原核和真核生物中。在有胁迫因子存在的条件下,热休克蛋白会高度表达以起到稳定细胞结构,维护细胞正常生理功能,提高机体适应能力的作用。根据 HSPs 分子量的不同,通常分为 4 个主要家族: HSP90 家族(分子量约为 83 ~ 90 kDa)、HSP70 家族(分子量约为 66 ~ 78 kDa)、HSP60 家族和小分子量 HSP 家族(12 ~ 43 kDa)<sup>[66]</sup>。沈骅等<sup>[67]</sup>研究  $\text{Cu}^{2+}$  和 Cu-EDTA 对鲫鱼脑组织应激蛋白 HSP70 诱导的影响。结果表明,  $\text{Cu}^{2+}$  和 Cu-EDTA 对鱼脑内 HSP70 有显著的诱导,而将  $\text{Cu}^{2+}$  和 Cu-EDTA 实验组相对比,络合剂 EDTA 一定程度上改变了  $\text{Cu}^{2+}$  的生物可利用性,从而降低了其毒性。实验还发现,  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在国家渔业水质标准  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  下时,鱼脑组织内 HSP70 已经有明显的表达,这说明分子生物学指标要比传统的环境监测指标更敏感,可以用于污染物的早期预警。目前,热休克蛋白已成为环境污染胁迫与诊断首选的分子生物标志物之一,不过至今还没有人研究 HSP 含量与抗生素是否存在明显的剂量-效应关系。

### 3.2 核酸

脱氧核糖核酸(DNA)是生物体内重要的大分子和遗传物质。研究发现,抗生素类污染物能干扰 DNA 的复制和修复等正常活动,可能会导致遗传变化。污染物及其代谢产物可以与 DNA 作用形成 DNA 加合物,造成 DNA 链断裂从而导致 DNA 损伤,如果损伤不能被修复则产生 DNA 结构和功能损伤,将最终导致细胞死亡或突变。目前, DNA 加合物的测定方法主要有:<sup>32</sup>P-后标记法、特定加合物的单克隆和多克隆抗体的免疫测定、高效液相色谱法/荧光分光光度法等。DNA 链断裂的研究方法主要有单细胞微凝胶电泳技术、彗星分析、微核实验以及功能基因组学、转录组、蛋白质组学和代谢组学等。

Bardini 等<sup>[68]</sup>研究了抗生素诱导下拟南芥愈伤组织 DNA 甲基化变化。结果表明,卡那霉素诱导下,拟南芥愈伤组织基因组中同时观察到了超甲基化和低甲基化变化。甲基化敏感扩增多态性分析法(MSAP)显示,暴露在  $240 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  卡那霉素下 7 d 后,拟南芥愈伤组织中的 DNA 同时发生作用于 CCGG 序列的甲基化和去甲基化作用,二者比例为 65.4% 和 34.6%。同时研究还发现,卡那霉素诱导最终会造成拟南芥愈伤组织全基因组低甲基化,这一作用存在剂量-效应关系。Koseoglu 等<sup>[69]</sup>研究苜

星青霉素 G 对淋巴细胞姐妹染色单体交换频率的影响,发现暴露在苜星青霉素 G 下 3 d 并没有对 DNA 产生毒性,这可能是因为暴露时间较短同时 DNA 具有自我修复功能,但是长期暴露对 DNA 所造成的潜在损伤并不能忽视。

信使 RNA 是由 DNA 经 hnRNA 剪接而成,携带遗传信息并能指导蛋白质合成的一类单链核糖核酸。它在核糖体上作为蛋白质合成的模板,决定肽链的氨基酸排列顺序。现在已有研究发现,抗生素暴露可能会导致 mRNA 的表达异常。Miyazaki 等<sup>[70]</sup>报道,大环内酯类抗生素可以抑制人体白细胞内胞浆磷脂酶  $\text{A}_2(\text{cPLA2})$ 、环氧合酶(COX)-1 和(COX)-2 的 mRNA 的表达,从而抑制人体白细胞内前列腺素  $\text{E}_2$  的合成。

## 4 研究展望

综上所述,抗生素虽然在环境中的浓度较低,但其对生态环境以及人类健康的潜在危害不容忽视。近年来,西方国家已经有越来越多的研究者开始关注抗生素所造成的环境问题,相比较而言我国在这一领域的研究还处于起步阶段。因此,还需要在以下几个方面展开深入研究:

1) 土壤环境中抗生素的污染现状:在国内展开广泛调查,确定国内土壤环境中抗生素污染现状,了解抗生素在国内土壤环境中的污染水平,掌握抗生素污染的空间分布特征。

2) 抗生素对土壤中生物的潜在危害:目前研究表明,抗生素对植物、土壤动物和微生物具有毒性,但大多只停留在对表面现象的描述,还缺乏对相关机理的深入研究。采用分子生物学的方法与技术研究抗生素对细胞内分子的影响,有助于从分子、细胞、个体以及群落水平上揭示抗生素对土壤生态系统所产生的生态毒性以及致毒机制。

3) 抗性基因的传播与生态风险:抗生素长期存在于土壤环境中必然诱导抗性基因的产生。目前,对抗性基因的传播扩散以及其可能造成的生态风险尚缺乏系统研究。今后应开展对不同种类抗生素抗性基因在土壤中分布,确认我国土壤中抗生素抗性基因的污染区域、污染种类和污染水平,建立我国抗生素抗性基因污染的数据库,为研究抗生素分子生态毒理提供依据。

通讯作者简介:王淑平(1964—),女,副教授,主要研究领域:土壤生态学、植物营养学与全球变化等。

## 参考文献:

- [1] 胡洪营,王超,郭美婷. 药品和个人护理用品(PPCPs)对环境的污染现状与研究进展[J]. 生态环境,2005,14(6): 947-952
- Hu H Y, Wang C, Guo M T. Status of environmental pollution by pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) [J]. Ecology and Environment, 2005, 14(6): 947-952 (in Chinese)
- [2] Heilig S, Lee P, Breslow L. Curtailing antibiotic use in agriculture [J]. Western Journal of Medicine, 2002, 176(1): 9-11
- [3] Halling-Sørensen B, Nielsen S N, Lanzky P F, et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A review [J]. Chemosphere, 1998, 36(2): 357-394
- [4] Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment-A review-Part I [J]. Chemosphere, 2009, 75(4): 417-434
- [5] Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, et al. Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 179(1-3): 1042-1048
- [6] Tolls J. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review [J]. Environmental Science & Technology, 2001, 35(17): 3397-3406
- [7] Sukul P, Lamshöt M, Zühlke S, et al. Sorption and desorption of sulfadiazine in soil and soil-manure systems [J]. Chemosphere, 2008, 73(8): 1344-1350
- [8] Blackwell P A, Kay P, Boxall A B A. The dissipation and transport of veterinary antibiotics in a sandy loam soil [J]. Chemosphere, 2007, 67(2): 292-299
- [9] Jeong J, Song W H, Cooper W J, et al. Degradation of tetracycline antibiotics: Mechanisms and kinetic studies for advanced oxidation/reduction processes [J]. Chemosphere, 2010, 78(5): 533-540
- [10] Jørgensen S E, Halling-Sørensen B. Drugs in the environment [J]. Chemosphere, 2000, 40(7): 691-699
- [11] Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment—A review [J]. Ecological Indicators, 2008, 8(1): 1-13
- [12] Martinez-Carballo E, Gonzalez-Barreiro C, Scharf S, et al. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria [J]. Environmental Pollution, 2007, 148(2): 570-579
- [13] De Liguoro M, Cibin V, Capolongo F, et al. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: Evaluation of transfer to manure and soil [J]. Chemosphere, 2003, 52(1): 203-212
- [14] Karci A, Balcioglu I A. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey [J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(16): 4652-4664
- [15] Hamscher G, Sczesny S, Höper H, et al. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2002, 74(7): 1509-1518
- [16] Sengeløv G, Agerso Y, Halling-Sørensen B, et al. Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry [J]. Environmental International, 2003, 28(7): 587-595
- [17] 鲍艳宇. 几种畜禽粪便堆腐过程中物质转化及无害化和腐熟度参数的探讨[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2006: 36
- [18] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 规模化养殖畜禽粪主要有害成分测定分析研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(6): 822-829
- Zhang S Q, Zhang F D, Liu X M, et al. Determination and analysis on main harmful composition in excrement of scale livestock and poultry feedlots [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2005, 11(6): 822-829 (in Chinese)
- [19] Bueno M J M, Aguera A, Gomez M J, et al. Application of liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry to the determination of pharmaceuticals and related contaminants in wastewater [J]. Analytical Chemistry, 2007, 79(24): 9372-9384
- [20] Golet E M, Alder A C, Hartmann A, et al. Trace determination of fluoroquinolone antibacterial agents in solid-phase extraction urban wastewater by and liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Analytical Chemistry, 2001, 73(15): 3632-3638
- [21] Lindberg R H, Björklund K, Rendahl P, et al. Environmental risk assessment of antibiotics in the Swedish environment with emphasis on sewage treatment plants [J]. Water Research, 2007, 41(3): 613-619
- [22] Campagnolo E R, Johnson K R, Karpati A, et al. Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations [J]. Science of the Total Environment, 2002, 299(1-3): 89-95
- [23] Morales-Muñiz S, Luque-García J L, Luque de Castro M D. Continuous microwave-assisted extraction coupled with derivatization and fluorimetric monitoring for the determination of fluoroquinolone antibacterial agents from soil samples [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1059(1-2): 25-31
- [24] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A B A. A global perspective

- on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment [J]. *Chemosphere*, 2006, 65(5): 725–759
- [25] Aga D S, O'Connor S, Ensley S, et al. Determination of the persistence of tetracycline antibiotics and their degradates in manure-amended soil using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography – mass spectrometry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 53(18): 7165–7171
- [26] 王冉, 刘铁铮, 王恬. 抗生素在环境中的转归及其生态毒性[J]. *生态学报*, 2006, 26(1): 265–269
- Wang R, Liu T Z, Wang T. The fate of antibiotics in environment and its ecotoxicology: A review [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(1): 265–269 (in Chinese)
- [27] 周启星, 罗义, 王美娥. 抗生素的环境残留、生态毒性及抗性基因污染[J]. *生态毒理学报*, 2007, 2(3): 243–251
- Zhou Q X, Luo Y, Wang M E. Environmental residues and ecotoxicity of antibiotics and their resistance gene pollution: A review [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2007, 2(3): 243–251 (in Chinese)
- [28] Kong W D, Zhu Y G, Fu B J, et al. The veterinary antibiotic oxytetracycline and Cu influence functional diversity of the soil microbial community [J]. *Environmental Pollution*, 2006, 143(1): 129–137
- [29] Thiele-Bruhn S, Beck I. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass [J]. *Chemosphere*, 2005, 59(4): 457–465
- [30] 刁晓平, 孙英健, 孙振钧, 等. 安普霉素对不同土壤中微生物活动的影响[J]. *生态环境*, 2004, 13(4): 565–568
- Diao X P, Sun Y J, Sun Z J, et al. Effects of Apramycin on microbial activity in different types of soil [J]. *Ecology and Environment*, 2004, 13(4): 565–568 (in Chinese)
- [31] 张跃华, 罗志文, 赵永勋. 阿维菌素对土壤微生物的活性影响[J]. *佳木斯大学学报: 自然科学版*, 2002, 20(1): 49–51
- Zhang Y H, Luo Z W, Zhao Y S. The effect of avermectin on the activity of soil microbiology [J]. *Journal of Jiamusi University: Natural Science Edition*, 2002, 20(1): 49–51 (in Chinese)
- [32] Boleas S, Alonso C, Pro J, et al. Toxicity of the antimicrobial oxytetracycline to soil organisms in a multi-species-soil system (MS center dot 3) and influence of manure co-addition [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2005, 122(3): 233–241
- [33] 崔丽娜, 董树亭, 高荣歧, 等. 外源四环素对菜田土壤微生物活性及数量的影响[J]. *水土保持学报*, 2010, 24(1): 214–218
- Cui L N, Dong S T, Gao R Q, et al. Effects of extraneous tetracycline on soil-microbial activity and microbial population of vegetable field [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(1): 214–218 (in Chinese)
- [34] 汤玮婧, 杨清香. 土霉素对土壤微生物活性及群落的影响[J]. *湖北农业科学*, 2009, 48(1): 70–73
- Tang W J, Yang Q X. Effect of terramycin on activity and communities of soil microbe [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2009, 48(1): 70–73 (in Chinese)
- [35] 王加龙, 刘坚真, 陈杖榴, 等. 恩诺沙星残留对土壤微生物功能的影响[J]. *生态学报*, 2005, 25(2): 279–282
- Wang J L, Liu J Z, Chen Z L, et al. Effects of enrofloxacin residues on the functions of soil microbes [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(2): 279–282 (in Chinese)
- [36] 姚建华, 牛德奎, 李兆君, 等. 抗生素土霉素对小麦根际土壤酶活性和微生物生物量的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(4): 721–728
- Yao J H, Niu D K, Li Z J, et al. Effects of antibiotics oxytetracycline on soil enzyme activities and microbial biomass in wheat rhizosphere [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(4): 721–728 (in Chinese)
- [37] Zielezny Y, Groeneweg J, Vereecken H, et al. Impact of sulfadiazine and chlorotetracycline on soil bacterial community structure and respiratory activity [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(8): 2372–2380
- [38] 刘锋, 应光国, 周启星, 等. 抗生素类药物对土壤微生物呼吸的影响[J]. *环境科学*, 2009, 30(5): 1280–1285
- Liu F, Ying G G, Zhou Q X, et al. Effects of antimicrobial drugs on soil microbial respiration [J]. *Environmental Science*, 2009, 30(5): 1280–1285 (in Chinese)
- [39] 马驿, 陈杖榴. 恩诺沙星对土壤微生物群落代谢功能多样性的影响[J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(3): 446–452
- Ma Y, Chen Z L. Effects of enrofloxacin on the functional diversity of soil microbial communities [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(3): 446–452 (in Chinese)
- [40] 刁晓平, 孙英健, 孙振钧. 3种兽药对土壤微生物呼吸的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2006, 11(2): 39–43
- Diao X P, Sun Y J, Sun Z J. Effects of three kinds of veterinary drugs on microbe respiration in different soils [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2006, 11(2): 39–43 (in Chinese)
- [41] Bager A J, Jensen J, Krogh P H, et al. Effects of the antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna [J]. *Chemosphere*, 2000, 40(7): 751–757
- [42] 刁晓平, 孙英健, 孙振钧, 等. 三种兽药在不同暴露系统对蚯蚓的急性毒性[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(4): 823–826

- Diao X P, Sun Y J, Sun Z J. Acute toxicity of three kinds of veterinary drugs on earthworm (*Eisenia fetida*) under different exposure systems [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(4): 823–826 (in Chinese)
- [43] 李银生, 曾振灵, 陈杖榴, 等. 三种兽药对蚯蚓的急性毒性试验[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(6): 1065–1069
- Li Y S, Zeng Z L, Chen Z L, et al. LC<sub>50</sub> the acute toxicity of three veterinary pharmaceuticals to earthworms [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(6): 1065–1069 (in Chinese)
- [44] 王轶, 刁晓平, 张先勇. 莫能菌素对蚯蚓的生态毒理效应[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(6): 1091–1097
- Wang Y, Diao X P, Zhang X Y. Ecotoxicological effects of monensin pollution on earthworm (*Eisenia fetida*) [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(6): 1091–1097 (in Chinese)
- [45] 高玉红, 孙新胜, 孙振钧, 等. 喹乙醇对蚯蚓的毒理学研究[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(6): 1450–1454
- Gao Y H, Sun X S, Sun Z J, et al. Toxicity of olaquinox on earthworms [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(6): 1450–1454 (in Chinese)
- [46] Bradel B G, Preil W, Jeske H. Remission of the free-branching pattern of *Euphorbia pulcherrima* by tetracycline treatment [J]. *Journal Phytopathology*, 2000, 148(11-12): 587–590
- [47] Boxall A B A, Johnson P, Smith E J, et al. Uptake of veterinary medicines from soils into plants [J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2006, 54(6): 2288–2297
- [48] 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 & Technology*, 2007, 41(4): 1450–1456
- [49] 王朋, 温蓓, 张淑贞. 环丙沙星对玉米芽期抗氧化酶活性及自由基代谢的影响[J]. *环境化学*, 2011, 30(4): 753–759
- Wang P, Wen B, Zhang S Z. Influence of ciprofloxacin (cip) on antioxidative enzymes and free radical levels in maize (*Zea mays* L.) early stage development [J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 30(4): 753–759 (in Chinese)
- [50] 刘吉强, 诸葛玉平, 崔丽娜. 外源青霉素对菜田土壤酶活性与油菜品质的影响[J]. *水土保持学报*, 2009, (1): 202–206
- Liu J Q, Zhuge Y P, Cui L N. Effects of extraneous penicillin on soil enzyme activity of vegetable field and cole quality [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2009, (1): 202–206 (in Chinese)
- [51] Migliore L, Civitareale C, Brambilla G, et al. Effects of sulphadimethoxine on cosmopolitan weeds (*Amaranthus retroflexus* L., *Plantago major* L. and *Rumex acetosella* L.) [J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 1997, 65(2): 163–168
- [52] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants [J]. *Chemosphere*, 2003, 52(7): 1233–1244
- [53] Kong W D, Zhu Y G, Liang Y C, et al. Uptake of oxytetracycline and its phytotoxicity to alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2007, 147(1): 187–193
- [54] 金彩霞, 陈秋颖, 刘军军, 等. 两种常用兽药对作物发芽的生态毒性效应[J]. *环境科学学报*, 2009, 29(3): 619–625
- Jin C X, Chen Q Y, Liu J J, et al. The eco-toxicological effect of two common veterinary drugs on crop germination [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(3): 619–625 (in Chinese)
- [55] 鲍艳宇, 周启星, 谢秀杰. 四环素类抗生素对小麦种子芽与根伸长的影响[J]. *中国环境科学*, 2008, 28(6): 313–318
- Bao Y Y, Zhou Q X, Xie X J. Influence of tetracycline kind antibiotics on the control of wheat germination and root elongation [J]. *China Environmental Science*, 2008, 28(6): 313–318 (in Chinese)
- [56] Committee on Biological Markers of the National Research Council (NRC). Biological markers in environmental-health research [J]. *Environmental Health Perspectives*, 1987, 74: 3–9
- [57] Depledge M H, Fossi M C. The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates [J]. *Ecotoxicology*, 1994, 3(3): 161–172
- [58] Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, et al. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, 64(2): 178–189
- [59] Laville N, Ait-Aissa S, Gomez E, et al. Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes [J]. *Toxicology*, 2004, 196(1-2): 41–55
- [60] Monari M, Foschi J, Cortesi P, et al. Chloramphenicol influence on antioxidant enzymes with preliminary approach on microsomal CYP1A immunopositive-protein in *Chamelea gallina* [J]. *Chemosphere*, 2008, 73(3): 272–280
- [61] Pinto A G, Wang Y H, Chalasani N, et al. Inhibition of human intestinal wall metabolism by macrolide antibiotics: Effect of clarithromycin on cytochrome P450 3A4/5 activity and expression [J]. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2005, 77(3): 178–188

- [62] Christen V , Caminada D , Arand M , et al. Identification of a CYP3A form ( CYP3A126 ) in fathead minnow ( *Pimephales promelas* ) and characterisation of putative CYP3A enzyme activity [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* , 2010 , 396( 2 ) : 585 – 595
- [63] Wang N , Noemie N , Hien N , et al. Adverse effects of enrofloxacin when associated with environmental stress in Tra catfish ( *Pangasianodon hypophthalmus* ) [J]. *Chemosphere* , 2009 , 77( 11 ) : 1577 – 1584
- [64] 姜蕾,陈书怡,尹大强. 四环素对铜绿微囊藻光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2010 , 26( 6 ) : 564 – 567
- Jiang L , Chen S Y , Yin D Q. Effects of tetracycline on photosynthesis and antioxidant enzymes of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment* , 2010 , 26( 6 ) : 564 – 567 ( in Chinese)
- [65] 聂湘平,鹿金雁,李潇,等. 诺氟沙星( Norfloxacin )对蛋白核小球藻( *Chlorella pyrenoidosa* )生长及抗氧化酶活性的影响[J]. *生态毒理学报*, 2007 , 2( 3 ) : 327 – 332
- Nie X P , Lu J Y , Li X , et al. Toxic effects of norfloxacin on the growth and the activity of antioxidantase of *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology* , 2007 , 2( 3 ) : 327 – 332 ( in Chinese)
- [66] 王晓蓉,罗义,施华宏,等. 分子生物标志物在污染环境早期诊断和生态风险评价中的应用[J]. *环境化学*, 2006 , 25( 3 ) : 320 – 325
- Wang X R , Luo Y , Shi H H , et al. Application of molecular biomarkers in early diagnosis and ecological risk assessment for water and soil [J]. *Environmental Chemistry* , 2006 , 25( 3 ) : 320 – 325 ( in Chinese)
- [67] 沈骅,王晓蓉,张景飞,等.  $\text{Cu}^{2+}$ 和Cu-EDTA对鲫鱼脑组织应激蛋白HSP70诱导的影响[J]. *环境科学*, 2004 , 25( 3 ) : 94 – 97
- Shen H , Wang X R , Zhang J F , et al. Effects of copper (  $\text{Cu}^{2+}$  ) and Cu-EDTA complex on the induction of HSP70 in the fish brain [J]. *Environmental Science* , 2004 , 25( 3 ) : 94 – 97 ( in Chinese)
- [68] Bardini M , Labra M , Winfield M , et al. Antibiotic-induced DNA methylation changes in calluses of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* , 2003 , 72 : 157 – 162
- [69] Koseoglu V , Kismet E , Soysal Y , et al. Investigation of DNA damage in lymphocytes exposed to benzathine penicillin G [J]. *Pediatrics International* , 2004 , 46( 4 ) : 415 – 418
- [70] Miyazaki M , Zaitsu M , Honjo K , et al. Macrolide antibiotics inhibit prostaglandin E-2 synthesis and mRNA expression of prostaglandin synthetic enzymes in human leukocytes [J]. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* , 2003 , 69( 4 ) : 229 – 235 ◆