

恩诺沙星对小型模型水生态系统中底泥微生物的影响

吴银宝^{1,2,3}, 廖新倮^{1,2,3}, 汪植三¹

(1.华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642; 2.华南农业大学农业部生态农业重点开放实验室, 广东 广州 510642;
3.广东省高等学校农业生态与农村环境重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:兽药在环境中的行为及其生态效应已成为目前生态毒理学研究的热点之一。恩诺沙星是畜禽养殖业中广泛应用的抗菌药物,它可随畜禽排泄物进入环境,对环境生物产生影响。为对恩诺沙星的生态安全评价提供依据,利用小型模型水生态系统研究了恩诺沙星在其中的降解及其对底泥微生物数量的影响,于室外大棚以自然发生法构建了小型模型水生态系统(水生微宇宙),培育2个月待其稳定后用于试验研究。试验设恩诺沙星0.02、0.05、0.1、0.2和0.5 mg·L⁻¹ 5个浓度系列,1个空白对照。结果表明,试验初期恩诺沙星在模型水生态系统中的消失速度很快,随时间推移消失速度逐步减慢,并且在低浓度时维持较长的时间;初始浓度越高,恩诺沙星在低浓度时维持的时间越久。在试验浓度范围内,恩诺沙星对淤泥中的好氧细菌、真菌、放线菌、氨化细菌和硝化细菌的数量均无显著影响。

关键词:恩诺沙星;小型模型水生态系统;淤泥;微生物

中图分类号:X592 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)10-2167-06

Effects of Enrofloxacin on Microorganisms of Silt in Aquatic Microcosms

WU Yin-bao^{1,2,3}, LIAO Xin-di^{1,2,3}, WANG Zhi-san¹

(1.College of Animal Science, South China Agricultural University,Guangzhou 510642, China; 2.Key Laboratory of Ecological Agriculture of Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, Guangzhou 510642, China; 3.Key Laboratory of Agroecology and Rural Environment of Guangdong Regular Higher Education Institutions, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Environmental behaviors and ecological effects of veterinary drug had been an increasingly hot topic in ecotoxicology. Considered as a most important antibiotic, enrofloxacin was widely applied to promote livestock production. However, enrofloxacin normally excreted into manure could adversely affect organisms of the surroundings. Degradation and impacts on silt microorganisms of enrofloxacin were determined in aquatic microcosms to evaluate ecological risk of antibiotics. Six of aquatic microcosms were successfully set up in natural conditions and applied for testing. Levels of enrofloxacin were designed to be 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 and 0.5 mg·L⁻¹ respectively for determining. The concentration of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in water samples were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC). The population of aerobic bacteria, fungus, actinomycetes, ammonifying bacteria and nitrifying bacteria in silt were determined by plate cultivation method. The results showed that enrofloxacin was rapidly degraded in the initial stage in aquatic microcosms. Degradation of enrofloxacin slowed down afterwards and enrofloxacin maintained in low concentration for a long time. It was observed that the higher concentration of antibiotic was in initial stage, the longer time low level maintained in. 0.02-0.5 mg·L⁻¹ enrofloxacin had no significant effects on the population of aerobic bacteria, fungus, actinomycetes, ammonifying bacteria and nitrifying bacteria in this experiment. Ecological effects of enrofloxacin on silt microorganism in aquatic ecosystem were finally discussed in the paper. It suggested that the molecular biological method should be adopted to assess the effects of veterinary drug on environmental microorganisms.

Keywords: Enrofloxacin; aquatic microcosms; silt; microorganisms

随着规模化畜牧业的发展,疫病已成为制约畜牧

业发展的重要因素,畜牧业应用兽药愈来愈多。从所售兽药的构成来看,药物类饲料添加剂的销售额自1999年来逐年降低,兽用医药品和生物制剂销售额所占比例不断增长。在欧盟消费的兽用抗菌药中,约3 500 t作为化学治疗药物,1 500 t作为抗菌促生长添加剂^[6,10]。兽药进入畜禽体后,经体内代谢后药物原形

收稿日期:2009-03-11

基金项目:国家自然科学基金项目(30700586);华南农业大学校长基金资助项目

作者简介:吴银宝(1973—),男,博士,主要从事家畜生态学研究。

E-mail:wuyinbao@scau.edu.cn

及其体内代谢产物会通过畜禽机体的排泄物进入环境。残留于排泄物中的兽药在环境中若不能被及时降解,就可能对生态系统中的生物群落构成威胁,对系统的结构和功能产生直接或间接的影响。因此研究兽药的环境行为及生态效应已成为兽药生态毒理学研究的重要内容。

体积小于 1 m^3 的模型生态系统又称微宇宙(Microcosm)。微宇宙具有与自然生态系统相似的生物学组成、营养循环及多种物理参数,可在人工控制条件下研究外来物质在系统中的行为及其生态效应。它比单种生物测试能提供更完整的信息,而且可以合理地将结果外推到自然生态系统。近年来,国内外许多学者利用微宇宙技术研究了农药^[7,13,18]、兽药^[3,8,23]及其他有机污染物^[14,16]在模型生态系统中的行为及生态效应等问题,取得较为理想的结果。微生物是生态系统的重要组成部分,是养料转化、有机碳代谢及污染物降解的驱动力,在地球物质循环和能量转换方面发挥重要作用。微生物的变化将直接影响生态系统的基本功能,因此在对兽药进行生态风险评价时,通常将微生物的变化作为重要的参考指标^[9,15,20]。

恩诺沙星是畜禽养殖业中广泛应用的氟喹诺酮类抗菌药。进入畜禽机体的恩诺沙星会随粪尿排出体外^[21],因此有必要评价恩诺沙星进入陆生及水生生态系统的生态效应。已有研究表明,进入水生生态系统的恩诺沙星在一定浓度范围内不会影响到水生微生物种类及数量的变化^[20],但由于土壤对水相中的恩诺沙星有极强的吸附作用^[22],同时 Kummerer^[11]也报道恩诺沙星的体内代谢产物环丙沙星进入水体后,会被沉积物所吸附,且在水体中消失的环丙沙星中有 65% 进入底泥中,因此不可忽视进入底泥的恩诺沙星的生态效应。本文构建了小型模型水生态系统,研究恩诺沙星对底泥微生物种类及数量的影响,为评价其生态效应提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品

恩诺沙星对照品:含量 100%,批号 H051200,购自中国兽药监测所;盐酸环丙沙星对照品:含量 99.8%,批号 H020201,购自中国兽药监测所;恩诺沙星原料药:含量 99.4%,批号 20010515,购自浙江国邦制药厂;四丁基溴化铵:北京兴福精细化学研究所,分析纯;乙腈:Fisher scientific worldwide company,色谱

纯;胆盐、乳糖、蛋白胨、磷酸氢二钾、七水硫酸亚铁、七水硫酸镁等均为国产分析纯。

1.1.2 试剂和培养基

好氧细菌采用营养琼脂培养基;真菌采用察氏培养基;放线菌采用高氏 1 号培养基;氨化细菌采用氨氧化细菌计数用培养基;硝化细菌采用硝酸还原菌计数用培养基。上述微生物均采用 MPN(Most Probable Number)法培养计数。

1.1.3 材料

试验用水采用静置 10 d 以上的自来水。培育水生微宇宙所用的玻璃水族缸,规格为 $0.6\text{ m}\times 0.3\text{ m}\times 0.4\text{ m}$ (长 $\times$ 宽 $\times$ 高),容积 70 L。塘泥取自未经动物废弃物污染的池塘,池水经检验不含恩诺沙星,将塘泥风干粉碎后去除较大的石子及杂物备用。

1.2 试验方法

1.2.1 小型模型水生态系统的建立

首先于室外大棚内培养 7 个小型模型水生态系统(水生微宇宙)。试验开始时,各缸加入 23.75 kg 经风干的塘泥,约 5 cm 厚,灌注自来水 55 L。每 3 d 用自来水补充蒸发失水。30 d 后,各缸水中出现较丰富的藻类、原生动物、枝角类及微生物,各缸生物种类相似,代谢功能相近。

1.2.2 试验分组

水生微宇宙至少培育 2 个月,待其稳定后取功能相近的 6 个微宇宙用作正式试验。第 1 组为空白组(不加入恩诺沙星),从第 2 组到第 6 组,水体中恩诺沙星浓度分别为 0.02、0.05、0.1、0.2 和 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。试验期间平均气温为 $17.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.3 采样

各组按相应的恩诺沙星浓度给药后,在第 0、0.17、0.33、1、2、4、7、10、13、17、21、27、31 d 采用 5 点采样法采集水样,每点均采集从水面到底泥的水柱。样品混合均匀后,取适量于 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的滤膜,所得滤液 1 mL 用 HPLC 法进样 $50\text{ }\mu\text{L}$ 测定恩诺沙星浓度。底泥采样时间为 0、1、2、4、7、13、21、31 d,采用 5 点采样,混合均匀后用于底泥微生物指标的检测。

1.3 检测方法

1.3.1 色谱条件及工作指标

荧光检测器,激发波长 278 nm,发射波长 452 nm,衰减为 10,增益为 64;色谱柱 Hypersil BDS C18 ($5\text{ }\mu\text{m}$, $4.6\times 250\text{ mm}$),大连依利特科学仪器有限公司填充,流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。最低检测限:恩诺沙星及环

丙沙星均为 $0.002 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

在上述检测条件下,能将恩诺沙星、环丙沙星与水样中的其他成分分开,恩诺沙星和环丙沙星色谱峰保留时间分别为 4.9 和 4.3 min。

1.3.2 标准曲线

取 7 支微量离心管,第 1 管加入 $10 \mu\text{L}$ 双蒸水作为空白对照,其余 6 支管依次加入 $10 \mu\text{L}$ 恩诺沙星和环丙沙星系列浓度标准液,再加入 $980 \mu\text{L}$ 的双蒸水,使各管中制得的恩诺沙星和环丙沙星浓度分别为 $0.002 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,自动进样 $50 \mu\text{L}$ 进行 HPLC 分析,将恩诺沙星和环丙沙星的色谱峰面积(A_1 和 A_2)与对应的药物浓度(C_1 和 $C_2, \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)作回归,求得恩诺沙星和环丙沙星标准曲线的回归方程和相关系数分别为:

$$C_1 = 6.1475 \times 10^{-7} A_1 + 0.0823 (r = 0.9998)$$

$$C_2 = 1.0143 \times 10^{-6} A_2 + 0.0052 (r = 0.9999)$$

1.3.3 水样中恩诺沙星及环丙沙星浓度测定

给药后不同时间获得的水样,经 HPLC 分析,将恩诺沙星及其代谢产物环丙沙星的峰面积代入标准曲线回归方程中,计算出相应水样的药物浓度。对药物浓度过高超出检测限范围的样品,用流动相稀释后再进样测定其浓度。

1.4 统计分析方法

试验所取得的数据采用 SPSS10.0 for Windows 进行统计分析。多重比较采用邓肯氏新复极差检验法(DMRT 法)。

2 结果与分析

2.1 恩诺沙星在水生微宇宙中的降解

测定不同采样时间水样中恩诺沙星和环丙沙星浓度的结果表明,未检测到恩诺沙星的主要体内代谢产物环丙沙星,说明恩诺沙星在水体中的降解与在生物体内的代谢不同,这与恩诺沙星在自然水中降解的结果^[7]一致。由于环丙沙星的抗菌活性要强于恩诺沙星,因此与进入生物体相比,水环境中的恩诺沙星的生态风险较小。表 1 为不同采样时间水样中恩诺沙星的浓度变化。

由表 1 可以看出,试验开始时恩诺沙星在水生微宇宙中的消失速度很快,在试验开始后 4 h 左右浓度已经降至初始浓度的 50% 以下,但恩诺沙星在低浓度时会维持较长时间。初始浓度越高,恩诺沙星在低浓度时维持的时间就越久,这种趋势与恩诺沙星在自然水体中的降解结果相似^[9]。其原因可能为底泥对水体中的恩诺沙星有极强的吸附作用,虽然进入水生微宇

表 1 各试验组恩诺沙星的浓度变化($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)

Table 1 Changes of enrofloxacin concentration in water in experimental trials($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)

采样 时间/d	0 (CK)	0.02 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.05 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
0.00	—	20.00	50.00	100.00	200.00	500.00
0.17	—	11.83	27.49	38.14	78.14	150.74
0.33	—	6.82	11.59	18.13	28.68	90.60
1.00	—	4.38	6.01	9.85	10.87	57.94
2.00	—	3.55	3.56	3.87	4.51	9.73
4.00	—	2.91	3.24	3.29	3.57	7.40
7.00	—	—	2.97	3.29	3.57	5.63
10.00	—	—	2.91	3.06	3.46	5.12
13.00	—	—	—	2.98	3.38	4.98
17.00	—	—	—	—	3.33	3.68
21.00	—	—	—	—	3.28	3.63
26.00	—	—	—	—	3.25	3.40
31.00	—	—	—	—	2.39	3.39

宙的恩诺沙星在尚未被底泥吸附前,就已大部分被水解,但仍有部分恩诺沙星被底泥吸附,并缓慢向水体释放,从而导致水体中恩诺沙星在低浓度会维持很长时间。

2.2 恩诺沙星对底泥好氧细菌的影响

测定不同采样时间底泥样品中好氧细菌总数,并将其对数值与采样时间作图可得图 1。由图 1 可知,各试验组底泥好氧细菌总数的变化趋势均与空白组相似,开始加入恩诺沙星后各处理组好氧细菌总数变化较大,之后随时间的推移逐步趋于稳定,方差分析无显著差异($P > 0.05$)。表明在试验浓度范围内,水体中恩诺沙星的初始浓度对底泥中好氧细菌总数变化的影响较小。

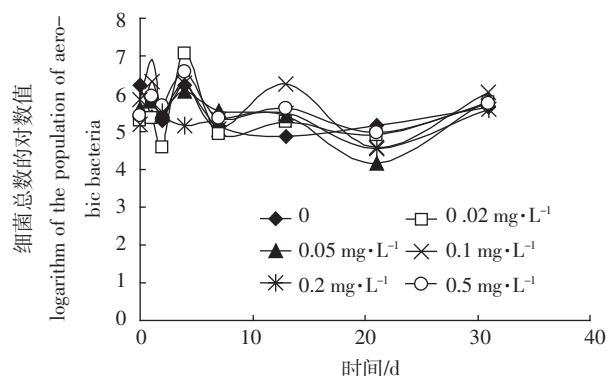


图 1 恩诺沙星对底泥好氧细菌总数的影响

Figure 1 Effect of enrofloxacin on the population of aerobic bacteria in silt

2.3 恩诺沙星对底泥真菌的影响

不同采样时间各试验组真菌数量的变化如图2所示。可以看出,本次试验所形成的水生微宇宙中,从空白组到试验组,底泥中真菌的数量都较少。加入恩诺沙星后,在不同采样时间各试验组真菌总数各不相同,但与空白组相比无显著差异($P>0.05$)。由此可知,在试验浓度范围内,恩诺沙星对淤泥中真菌的数量未产生显著影响。

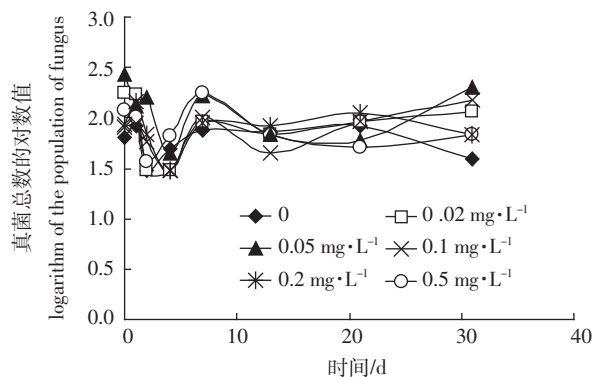


图2 恩诺沙星对底泥真菌总数的影响

Figure 2 Effect of enrofloxacin on the population of fungus in silt

2.4 恩诺沙星对底泥放线菌的影响

不同采样时间各试验组放线菌数量的对数值变化如图3所示。可以看出,各组放线菌的数量比较少,而且各组放线菌的数量变化相似,均在第8 d后显著下降直到为零,方差分析差异不显著($P>0.05$),说明底泥放线菌数量的变化不是因水体中加入恩诺沙星所引起,这可能是环境因素变化的结果。

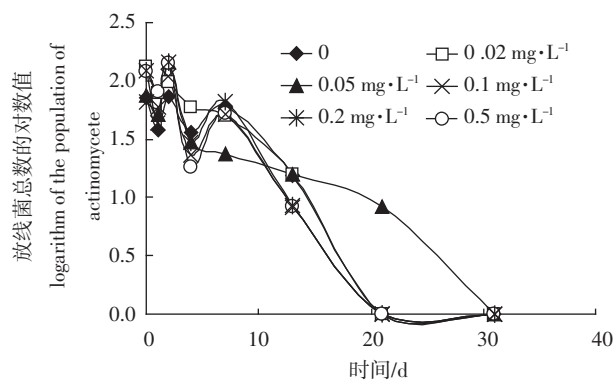


图3 恩诺沙星对底泥放线菌总数的影响

Figure 3 Effect of enrofloxacin on the population of actinomycete in silt

2.5 恩诺沙星对底泥氨化细菌的影响

不同采样时间各试验组底泥氨化细菌数量的变化如图4所示。各试验组底泥氨化细菌的数量变化与

空白组十分相似,试验开始时数量立即下降,在第2 d后缓慢回升,并呈逐步增加的趋势。方差分析结果表明,在试验浓度范围内,恩诺沙星对底泥中氨化细菌总数变化的影响不显著($P>0.05$)。

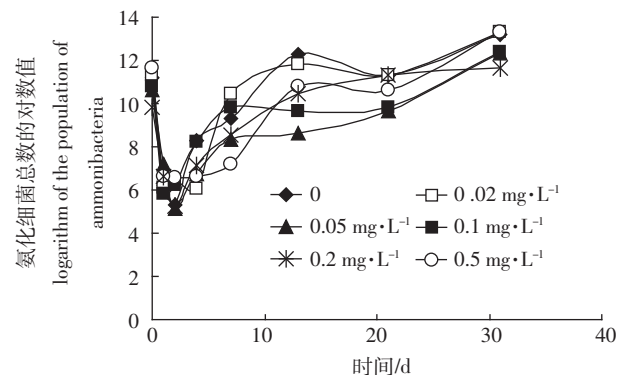


图4 恩诺沙星对底泥氨化细菌总数的影响

Figure 4 Effect of enrofloxacin on the population of ammonibacteria in silt

2.6 恩诺沙星对底泥硝化细菌的影响

不同采样时间各试验组底泥硝化细菌的数量变化如图5所示。试验开始后,各试验组的硝化细菌总数起伏不定,规律性不明显,但各组变化趋势相同。方差分析结果表明,各试验组底泥硝化细菌总数变化不显著($P>0.05$)。由此可知,在试验浓度范围内,恩诺沙星加入与否及其浓度大小不会影响淤泥中硝化细菌的数量变化,环境条件的变化可能是造成硝化细菌数量变化的主要原因。

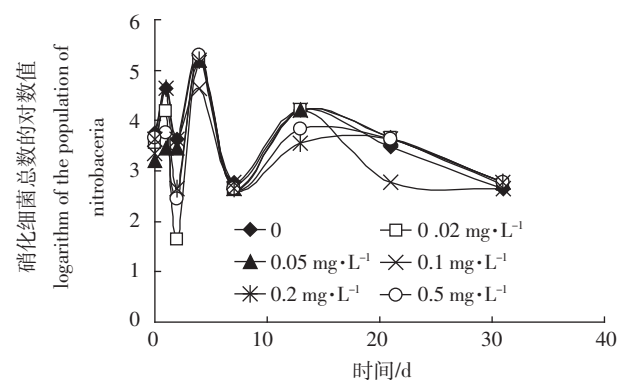


图5 恩诺沙星对底泥硝化细菌总数的影响

Figure 5 Effect of enrofloxacin on the population of nitrobacteria in silt

3 讨论

3.1 恩诺沙星对底泥微生物的影响

本试验中,空白与各试验组微生物的变化趋势在不同采样时间均无显著差异,表明在0.02~0.5 mg·L⁻¹

的试验浓度范围内,恩诺沙星不会影响模型水生生态系统底泥中好氧细菌、真菌、放线菌、氨化细菌以及硝化细菌数量的变化。其主要原因恩诺沙星在水环境中消失很快,而且主要以水解为主,因此虽然底泥对恩诺沙星的吸附性很强,但进入到底泥中的恩诺沙星的含量可能较低,不会对底泥微生物产生影响。本次试验未测定底泥中恩诺沙星的浓度变化,因此需通过进一步试验以验证这种推测。

对于兽药对环境微生物的影响,各研究者得出的结论不同。Dijk 等^[5]研究了 21 种饲料中添加的抗生素对来自土壤和水体中的 36 种微生物的影响,结果表明仅有 7 种微生物对抗生素敏感,其余的微生物对这些抗生素具有天然耐药性。吴银宝等^[20]的研究表明,即使水生微宇宙中恩诺沙星的初始浓度达到 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,仍不会影响到水体中好氧细菌、真菌、放线菌、氨化细菌以及硝化细菌数量的变化。王加龙等^[17]研究了恩诺沙星残留对土壤中细菌数量和群落多样性的影响,结果表明随着土壤中恩诺沙星浓度从 $0.01 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土的增加,细菌和放线菌总数都有所降低且药物浓度越大细菌数量下降得越快,并得出恩诺沙星残留对细菌、放线菌影响的有效期分别为 6 d 和 8 d。但从该文中恩诺沙星残留对土壤中微生物数量的影响图来看,各处理组与对照组间变化趋势相同,因此这种抑制作用值得商榷。马驿等^[12]借助 BIOLOG 检测法比较了不同浓度恩诺沙星影响下的土壤微生物的群落特征,结果表明恩诺沙星显著影响了土壤微生物群落代谢多样性,即使较低浓度的恩诺沙星 ($0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土)也可显著影响土壤微生物群落对碳源的利用代谢能力,且土壤微生物群落利用各类碳源的能力随药物浓度加大而降低。

值得注意的是,兽药对环境生物的影响不仅可以影响环境中各种生物如植物、动物和微生物的种群数量及种群结构,破坏环境中以食物链为基础的生态平衡,而且兽药的环境残留还可诱发耐药菌的产生,最终影响人类健康。本试验中,恩诺沙星在模型水生生态系统中的降解与其在天然水中的降解趋势一致,但不同的是恩诺沙星降解到较低浓度时,降解速率变慢,从而在低浓度维持较长时间。其可能原因是底泥对水体中恩诺沙星的吸附和解吸作用,当恩诺沙星进入水生微宇宙后,有一部分将进入底泥,并可通过底泥的解吸作用向水体缓慢释放恩诺沙星。因此,尽管恩诺沙星对底泥微生物的数量没有造成显著影响,但底泥微生物长时间与低浓度药物接触,很容易导致微

生物耐药性的产生,必须重视这种生态风险。

3.2 兽药对微生物影响的研究方法

底泥微生物参与水生生态系统中的物质循环和能量流动,其变化将会直接影响水生生态系统的基本功能,因此需要研究进入水生生态系统中的外源性物质对底泥微生物的影响。由于微生物生存环境多样、生长繁殖速度快、营养和代谢类型多样等特点,采用传统的微生物多样性研究手段,即将微生物从环境中分离、实验室培养,仅可对极少数微生物进行鉴定,而能够在实验室培养的种类更少,仅为 $1\% \sim 10\%$ ^[1-2]。同时,研究表明,在实际环境中占主要地位或占优势地位的菌群,在培养基上无法生长或生长很差,导致这些菌群在实际环境中的重要作用被忽视,而原来认为在一定环境中占优势的种群,实际上仅是更适合于在培养基上生长,其作用被高估^[4]。因此要研究兽药对底泥微生物的种群结构和数量的影响,仅靠传统的培养基分离的方法不能完全反映真实的影响情况。近年来随着分子生物学技术的发展,微生物多样性的研究也逐步深入到分子水平,从而克服了传统微生物研究技术的局限性,获取了更多更加丰富的微生物多样性信息。

本试验采用的是传统的平板培养法,因此可能未真正反映恩诺沙星对底泥微生物种类和数量多样性的影响。虽然试验结果表明恩诺沙星初始浓度的高低不会影响底泥中好氧细菌、真菌、放线菌、氨化细菌以及硝化细菌数量的变化,但这种结果也可能是由于恩诺沙星选择性地抑制了一些种类的微生物,而对另一些种类的微生物没有产生抑制作用甚至使其数量增加,所以在微生物的数量方面并没有显著差别。对于本试验,可以进一步通过分子生物学的方法检测恩诺沙星对底泥微生物种类的影响,这样才能更准确地评价恩诺沙星的生态效应。

4 结论

室内小型模型水生生态系统的试验结果表明,在 $0.02 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内,恩诺沙星在水体中的消失速度很快,之后随时间推移,消失速度逐步减慢,并且在低浓度时维持较长的时间。在试验浓度范围内,恩诺沙星对模型水生生态系统底泥中的好氧细菌、真菌、放线菌、氨化细菌和硝化细菌的数量均无显著影响。

参考文献:

- [1] Amann R L, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and

- in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. *Microbiol Rev*, 1995, 59(1):143-169.
- [2] Brock T D. The study of microorganisms in situ: progress and problems [J]. *Symp Soc Gene Microbiol*, 1987, 41:1-17.
- [3] Coats J. R. Model ecosystem evaluation of the environmental impacts of the veterinary drug phenothiazine, sulfamethazine, clopidol and diethylstilbestrol[J]. *Environ Health Perspect*, 1976, 18:167-179.
- [4] Cullen E D W, Hirsch P R. Simple and rapid method for direct extraction of microbial DNA from soil for PCR[J]. *Soil Boil Biochem*, 1997, 30:983-993.
- [5] Dijk P V, van de Vooredh. Sensitivity of environmental microorganism to antimicrobial agents[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1976, 31(3):332-336.
- [6] Haller M Y, Stephan R M, Christa S, et al. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002(952):111-120.
- [7] 黄玉瑶, 高玉荣, 曹宏, 等. 单甲脒农药对草型塘模型生态系统影响的初步研究[J]. 环境科学学报, 1994, 14(4):466-472.
- HUANG Yu-yao, GAO Yu-rong, CAO Hong, et al. A preliminary study on the effects of monoformamidine insecticide on model grassy pond ecosystem[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1994, 14(4):466-472.
- [8] Ingerslev F, Torang L, Marie-Louise Loke, et al. Primary biodegradation of veterinary antibiotics in aerobics and anaerobic surface water simulation systems[J]. *Chemosphere*, 2001(44):865-872.
- [9] Kerry J, Marian S, Shirley V, et al. The importance of bacterial multiplication in the selection, by oxytetracycline-HCl, of oxytetracycline-resistant bacteria in marine sediment microcosms[J]. *Aquaculture*, 1996(144):103-119.
- [10] Kummerer K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review[J]. *Chemosphere*, 2001(45):957-969.
- [11] Kummerer. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects[J]. *Liv Prod Sci*, 2001, 59:183-198.
- [12] 马驿, 陈杖榴, 曾振灵. 恩诺沙星对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(8):3400-3406.
- MA Yi, CHEN Zhang-liu, ZENG Zhen-lin. Effects of enrofloxacin residue on number and community function diversity of soil microbes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(8):3400-3406.
- [13] Metcalf R L, Sangha G K, Kapoor I P. Model ecosystem for the evaluation of pesticide biodegradability and ecological magnification[J]. *Environ Sci Technol*, 1971(5):709-713.
- [14] Miles R A, William J D. Assessing the aerobic biodegradability of 14 hydrocarbons in two soils using a simple microcosm/respiration method [J]. *Chemosphere*, 2001(45):1085-1090.
- [15] Pursell L, Dineen T, Kerry J, et al. The biological significance of breakpoint concentrations of oxytetracycline in media for the examination of marine sediment microflora[J]. *Aquaculture*, 1996(145):1-4, 21-30.
- [16] Tolle D A, Frye C L, Lehmann R G, et al. Ecological effects of PDMS-augmented sludge amended to agricultural microcosms[J]. *The Science of Total Environment*, 1995(162):193-207.
- [17] 王加龙, 刘坚真, 陈林, 等. 恩诺沙星残留对土壤微生物数量及群落功能多样性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(1):86-89.
- WANG Jia-long, LIU Jian-zhen, CHEN Lin, et al. Effects of enrofloxacin residues on the functions of soil microbes[J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2005, 11(1):86-89.
- [18] Webber E C, Deutsch W G, Bayne D R, et al. Ecosystem-level testing of a synthetic pyrethroid insecticide in aquatic mesocosms[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1992, 11(1):87-105.
- [19] 吴银宝, 廖新倮, 汪植三, 等. 兽药恩诺沙星(enrofloxacin)的水解特性[J]. 应用生态学报, 2006, 17(6):1086-1090.
- WU Yin-bao, LIAO Xi-di, WANG Zhi-san, et al. Hydrolysis characteristics of enrofloxacin[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(6):1086-1090.
- [20] 吴银宝, 汪植三, 廖新倮, 等. 恩诺沙星对小型模型水生态系统中微生物的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(8):2640-2645.
- WU Yin-bao, WANG Zhi-san, LIAO Xi-di, et al. Effects of enrofloxacin on microorganisms in wetlands [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(8):2640-2645.
- [21] 吴银宝, 汪植三, 廖新倮, 等. 恩诺沙星在鸡体中的排泄及其在鸡粪中的降解[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(10):1069-1073.
- WU Yin-bao, WANG Zhi-san, LIAO Xi-di, et al. Study on the excretion of enrofloxacin in chicken and its degradation in chicken feces[J]. *Acta Veterinaria Zootechnica Sin*, 2005, 36(10):1069-1073.
- [22] 吴银宝, 汪植三, 廖新倮, 等. 土壤对恩诺沙星的吸附和解吸特性研究[J]. 生态环境, 2005, 14(5):645-649.
- WU Yin-bao, WANG Zhi-san, LIAO Xi-di, et al. Study on the absorption and desorption of soil to enrofloxacin[J]. *Ecol Environ*, 2005, 14(5):645-649.
- [23] 俞道进, 曾振灵, 陈杖榴. 土霉素残留对模型池塘生态系统代谢的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(4):511-513.
- YU Dao-jin, ZENG Zhen-lin, CHEN Zhang-liu. Effect of oxytetracycline residue on metabolism of model pond ecosystem[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2006, 12(4):511-513.