

基于植物根伸长终点测试四环素对植物的毒性阈值及其敏感性分布(SSD)

张乙涵¹, 伍 钧^{1*}, 陈 莉^{2*}, 贾春虹², 李文华²

(1.四川农业大学资源环境学院, 成都 611130; 2.北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100097)

摘 要:在实验室条件下以植物根伸长为测试终点,研究了添加不同水平的四环素对 8 种不同植物毒性的剂量-效应关系及不同植物对四环素毒害的敏感性差异。水溶液中四环素对植物的毒性阈值采用逻辑斯蒂克分布模型拟合得到,物种敏感性分布采用 BurrIzO 模型分析。结果表明,不同植物种子根伸长和芽伸长对四环素生态毒性的敏感顺序均为:根伸长>芽伸长。在 0.1~1 mg·L⁻¹ 浓度范围内,四环素能对植物根伸长和芽伸长产生刺激效应,而在浓度>10 mg·L⁻¹ 时则表现出抑制作用。不同品种植物间,水溶液中四环素毒性阈值浓度(EC_x)存在较大差异,这可能与植物品种差异有关。水溶液中不同植物对四环素毒性的敏感性频次分布存在明显差异,其中番茄和黄瓜对四环素较为敏感,而禾本科植物玉米对四环素毒害的响应最不敏感。此研究可为环境中四环素类抗生素的生态阈值建立与风险评价提供依据。

关键词:四环素;植物毒性;物种敏感性分布;剂量效应

中图分类号:X503.231 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)02-0243-07 doi:10.11654/jaes.2014.02.006

Toxicity Thresholds of Tetracycline to Plants as Determined by Root Elongation and Its Species Sensitivity Distributions

ZHANG Yi-han¹, WU Jun^{1*}, CHEN Li^{2*}, JIA Chun-hong², LI Wen-hua²

(1.College of Resource and Environment, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2.Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100097, China)

Abstract: Dose-response curves and species sensitivity distributions (SSD) of tetracycline to 8 different plant species were investigated by using plant root elongation as endpoints. Toxicity thresholds of tetracycline to plants in aqueous solution were obtained using Log-logistic distribution model, and SSDs were generated with BurrIzO model. The sensitivity of bud and root elongation to tetracycline was in order: root elongation>bud elongation. Plant root elongations were inhibited at high tetracycline concentrations(>10 mg·L⁻¹), but stimulated at low tetracycline concentrations(0.1~1 mg·L⁻¹) in aqueous solution. Significant differences of the threshold values(EC_x) of tetracycline to plants were observed among different species. Tomato and cucumber were the most sensitive, whereas maize was the least to tetracycline in aqueous solution. These findings provide useful information for assessment of tetracycline risk in environment.

Keywords: tetracycline; phytotoxicity; species sensitivity distributions(SSD); dose-response curve

抗生素作为一种新型污染物受到人们的广泛关注。四环素类抗生素是世界上使用量最大的一类抗生

素,据 2001 年美国科学家联合会报道美国四环素类抗生素占抗生素使用总量的 70%,2008 年我国四环素类药物的使用量居抗生素使用量的首位,出口量超过 13 400 t^[1]。人畜服用四环素类药物后大部分以原形药物排出,其中一些仍然具有生物活性,这使它们对环境中细菌或包括人体在内的其他有机体健康产生潜在的危害^[2-3]。张树清等^[4]研究表明,我国主要规模化养殖场猪粪中金霉素平均质量浓度为 3.57 mg·kg⁻¹,四

收稿日期:2013-08-15

基金项目:国家自然科学基金(41101482);北京市自然科学基金(8122021);北京市农林科学院基金(QN201104)

作者简介:张乙涵(1988—),女,硕士研究生,主要研究方向为环境化学污染与生物修复。E-mail:zhangyh1115@126.com

*通信作者:伍 钧 E-mail:wuj1962@163.com;

陈 莉 E-mail:chenli517@126.com

环素平均质量浓度为 $5.22 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 最高可达 $78.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。大量畜禽粪便作为有机肥施用到农田是抗生素释放到陆生环境中的主要路径之一。Aust 等^[5]研究发现加拿大土壤中四环素的质量浓度可达到 $52 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。Hu 等^[6]研究表明我国北方土壤中四环素的质量浓度为 $20.9 \sim 105.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、金霉素为 $33.1 \sim 1079.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。目前对抗生素的生态毒理效应了解较少^[7-9], 关于抗生素植物毒性的文献报道还十分有限, 且多集中于对水生植物的影响上^[10-12], 对于陆生植物研究还比较少^[13-14]。从实验获得的抗生素对于不同营养级水生生物体如细菌、藻类和无脊椎动物(甲壳纲动物、轮虫和刺胞动物)的毒性阈值 EC_x 已经被用于推断抗生素的预测无效应浓度(predicted-no-effect concentration, PNEC), 从而用于抗生素环境风险评价^[15]。

植物对土壤中有有机污染物的吸收与污染物性质、植物种类和土壤类型有关, 不同种类的植物对同一有机污染物的吸收富集能力与毒性敏感度不同, 而同一种植物对不同有机污染物的吸收富集能力与毒性敏感度也不同^[13-14, 16-17]。物种敏感性分布(Species sensitivity distributions, SSD) 是基于不同物种对于污染物敏感性差异提出的。在污染物生态风险评价中, 将某一物种的毒理学数据外推到其他物种具有很大的不确定性和误差, 而多物种毒理学数据的 SSD 法则可以降低这一不确定性, 并体现出物种间的敏感性差异^[18]。然而, 目前关于抗生素植物毒性的物种敏感性分布报道较少。因此, 研究四环素对不同植物毒性阈值与不同植物对四环素毒性的物种敏感性分布, 对于四环素类抗生素的生态风险评价具有重要意义。

本文以 8 种常见的农作物为实验材料, 研究在种子发芽实验条件下, 四环素对 8 种不同植物种子根伸长和芽伸长的毒性效应, 进行剂量-效应关系拟合分析, 推导以植物根伸长为测试终点的不同植物对四环素毒性的敏感性分布, 为环境中四环素类抗生素的生态阈值建立与风险评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试药品与器皿: 盐酸四环素(Tetracycline Hydrochloride)标准品, 购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmGh 公司, 纯度 97.0%; 实验用水均为 Milli-Q 超纯水, NaClO 为分析纯; 滤纸、培养皿等。

供试植物种子: 黑麦草、苜蓿、黄瓜、番茄、胡萝卜、南瓜、莴笋、玉米, 购自北京市农林科学院蔬菜所

种子分公司。

四环素基本理化性质: 分子式 $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8$, 分子量 444.43, 为酸碱两性化合物, 能在酸性或碱性溶液中溶解, 微溶于水, 在水中的溶解度为 $231 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (20°C , $\text{pH}7$)。 $\lg K_{ow} = -1.30$, $\text{p}K_{a1} = 3.3$, $\text{p}K_{a2} = 7.7$, $\text{p}K_{a3} = 9.7$ 。

1.2 实验方法

使用滤纸法来评价抗生素对 8 种不同植物发芽的影响。该方法参照国际种子检验协会(ISTA)测试协议^[19], 并稍作改进。

首先进行预备实验, 根据预备实验的结果, 植物的相对根伸长在 20%~100%之间, 设置实验添加的四环素溶液浓度为 0、0.1、1、10、30、50、100、300、500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 每个浓度设 3 个重复。植物种子先使用 0.1% NaClO 溶液处理 5 min, 用蒸馏水冲洗干净后, 浸泡于蒸馏水中 6 h, 然后用镊子将植物种子均匀播种在培养皿中的滤纸上, 播种粒数为 15~20 粒, 主要是根据种子的大小而定, 再加入现配置的不同浓度四环素水溶液 7 mL, 盖好玻璃培养皿, 置于恒温培养箱中黑暗处培养, 温度控制在 25°C , 湿度 80%。4~5 d 后(主根长 > 5 mm) 测定各处理浓度下种子的根伸长和芽伸长, 计算相对根伸长与芽伸长的平均值和标准偏差, 绘制剂量-效应曲线, 进行回归分析, 并计算 EC_{50} 和 EC_{10} 值, 实验中对照种子发芽率 > 80%。其中根长是指根和芽接点处到最长根尖的长度; 芽长是根基点到芽尖的长度; 相对根或芽伸长 = (对照根或芽伸长 - 处理根或芽伸长) / 对照根或芽伸长 $\times 100\%$ 。

1.3 剂量-效应曲线拟合

四环素植物毒性的剂量-效应关系曲线采用逻辑斯蒂克分布模型(Log-logistic distribution)进行拟合^[20], 此模型已经被用于除草剂等对植物毒性的剂量-效应关系拟合, 拟合效果较好^[20]:

$$\text{Log-logistic 曲线: } y = \frac{y_0}{1 + e^{[a(x-M)]}}$$

式中: y 为各处理水平的植物根伸长与对照处理的植物根伸长的比值, 即相对植物根伸长, %; y_0 、 b 为拟合的参数; x 为添加的四环素浓度值, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; M 为 EC_x 的自然对数值。

1.4 低剂量刺激-效应曲线拟合

当溶液中低浓度四环素对植物产生刺激效应时, 采用 Schabenberger 等^[20]的低剂量毒物刺激效应(hormesis)曲线拟合, 此模型比较适用于产生低剂量刺激效应的污染物剂量-效应关系拟合, 可用 Tablecurve 2D V5.01 软件来完成。方程如下:

$$Y = \frac{a+bX}{1 + \left[\frac{k}{100-k} + \left(\frac{100}{100-k} \right) \frac{bc}{a} \right] \exp(d \ln X/c)}$$

式中: Y 为植物相对含量或相对生物量, %; X 为四环素的浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; a 、 b 、 c 、 d 为方程参数。当 k 为 10、50 时, 参数 c 定义为 EC_{10} 及 EC_{50} 。

1.5 四环素植物毒性的物种敏感性分布(SSD)测定

本实验采用 Burr III 型分布作为溶液中植物四环素毒性的敏感性分布(SSD)拟合曲线^[21], 它是一种灵活的概率分布函数, 对物种敏感性数据拟合特性较好, 可通过软件 BurrIzO 来完成。

Burr III 型函数的参数方程为:

$$F(x) = \frac{1}{[1 + (\frac{b}{x})^c]^k}$$

式中: x 为溶液中四环素的浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; b 、 c 、 k 为函数的 3 个参数。

1.6 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 2007、SPSS17.0 对数据进行方差分析与回归分析。所有数据使用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性分析, 本实验差异显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 四环素污染对植物种子芽伸长及根伸长的影响

四环素污染对 8 种植物芽伸长和根伸长的影响见图 1。从图 1 可以看出, 随着溶液中四环素浓度的逐渐增加, 四环素的植物毒性也逐渐增加, 不同植物的芽伸长和根伸长显著降低。添加不同浓度的四环素对不同植物的芽伸长和根伸长影响的差异较大, 这种差异与植物品种的不同有很大关系。在添加的四环素浓度 $0.1 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 黑麦草、南瓜、胡萝卜、玉米、莴笋的根伸长与对照相比显著增加, 其中玉米和莴笋在添加量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 其根伸长仍然大于对照, 而在添加的四环素浓度 $< 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 黑麦草、黄瓜、番茄、莴笋、玉米的芽伸长与对照相比显著增加, 这可能与四环素在低浓度条件下对种子根伸长与芽伸长的刺激效应有关。在四环素添加浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 黄瓜、南瓜、玉米的相对芽伸长分别为 78.8%、56.1%、96.6%, 相对根伸长分别为 24.7%、41.5%、53.8%, 8 种植物均表现为相对芽伸长高于相对根伸长, 可以看出植物根伸长对四环素毒害的响应比植物芽伸长更敏感。

2.2 四环素对不同植物毒性的剂量-效应关系

种子发芽实验中, 植物根伸长比芽伸长对四环素

的毒害作用反应更敏感, 因此我们选择植物根伸长作为测试终点, 与之前的研究一致^[17, 22]。本研究采用逻辑斯蒂克分布模型(Log-logistic distribution)对溶液中四环素植物毒性的剂量-效应关系曲线进行了拟合。由于在低浓度条件下, 添加四环素对几种植物生长有一定的刺激效应, 因此, 利用 Schabenberger 等^[20]的低剂量毒物刺激效应曲线模型对刺激效应条件下的参数进行了修正, 得到上述不同条件下的四环素对植物种子根伸长的毒性数据 EC_{50} 和 EC_{10} (表 1)。随着溶液中四环素浓度的增加, 植物的根伸长逐渐减小, 如图 2 所示, 8 种植物的四环素剂量-效应关系拟合的非常好。结果表明, 在测试的 8 种植物中, 四环素对植物根伸长的毒性阈值差异较大, EC_{50} 值从 $8.52 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 到 $108.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, EC_{10} 值从 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 到 $8.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。不同性质的植物 EC_{50} 和 EC_{10} 最大值与最小值的比例分别达到 13 和 11 倍(表 1)。

2.3 基于毒性阈值(EC_{50})的溶液中四环素植物毒性的敏感性频次分布

目前, 国内外对物种敏感性分布的常用参数拟合模型主要有 Burr III、Log-logistic、Log-triangular 以及 Log-Normal 等^[23-24]。Burr III 型分布是一种灵活的概率分布函数, 对物种敏感性数据拟合特性较好^[24]。此模型在重金属生态阈值建立与评价中应用较多, 在抗生素等有机污染物生态风险评估中的应用较少。

本实验根据上述在溶液中四环素植物毒性的浓度阈值(EC_{50} 值)进行对数变换后, 利用 Burr III 型分布统计软件进行拟合, 得到基于 95% 概率的溶液中四环素植物毒性的敏感性分布曲线(图 3)。从图 3 可见, 不同植物对四环素毒性的敏感性分布频次的顺序为番茄 > 黄瓜 > 黑麦草 > 苜蓿 > 胡萝卜 > 南瓜 > 莴笋 > 玉米。植物毒性的敏感性分布结果表明, 在所测试的不同品种植物中, 番茄和黄瓜是在植物种子发芽实验中对四环素比较敏感的品种, 而玉米对四环素毒害的耐性较强。

3 讨论

葛成军等^[25]研究了土霉素与金霉素对白菜种子发芽的影响, 其结果表明同一浓度水平下, 发芽率、根伸长、芽伸长对金霉素和土霉素生态毒性的敏感顺序依次为根伸长 > 芽伸长 > 发芽率。鲍艳宇等^[7]在水溶液培养条件下, 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生态

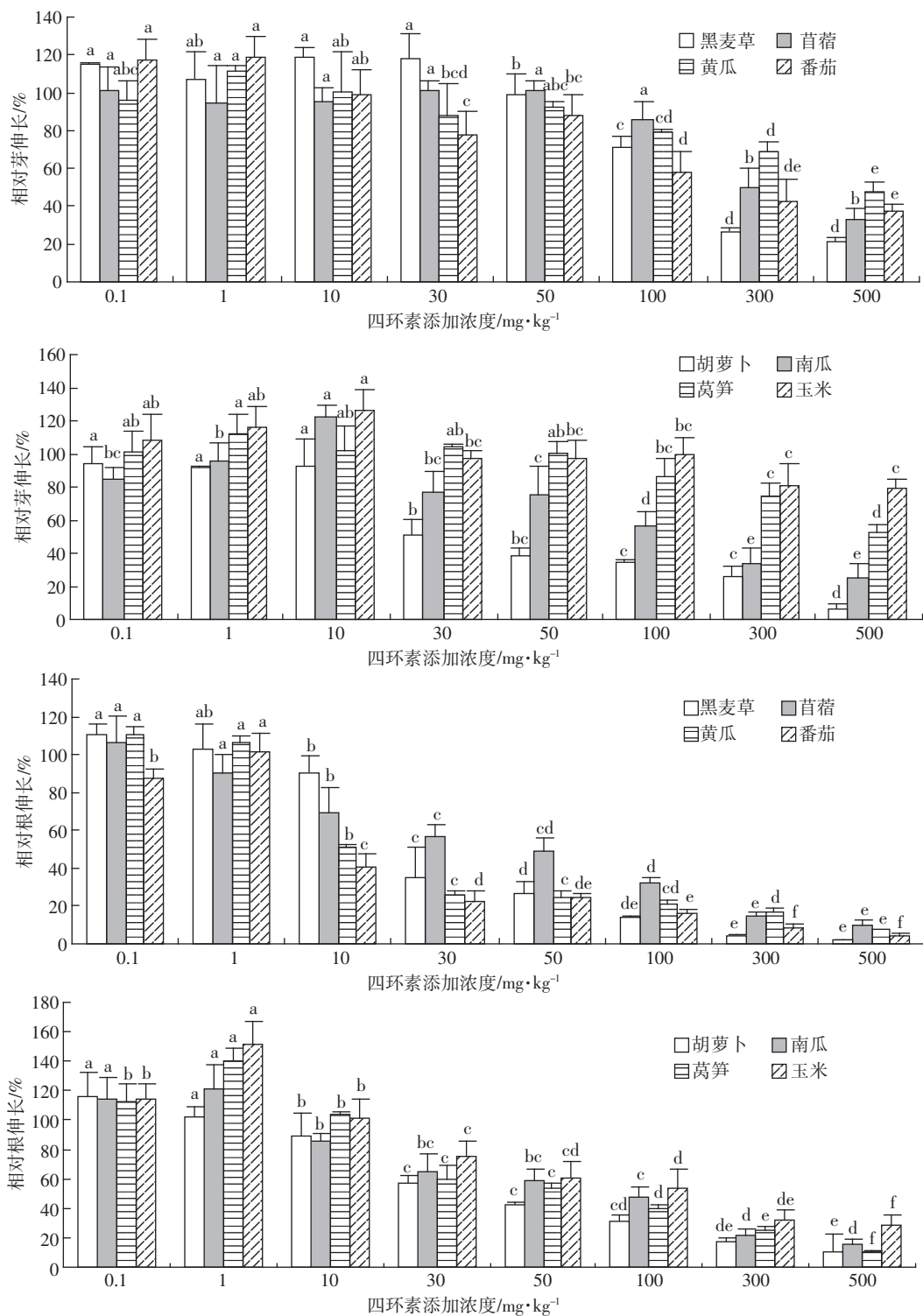


图1 四环素添加浓度对植物芽伸长与根伸长的影响

Figure 1 Effects of added tetracycline on bud and root elongations of different plant species

毒性的敏感顺序依次为根伸长>发芽率>芽伸长。本实验结果表明根伸长、芽伸长对四环素生态毒性的敏感顺序为根伸长>芽伸长,与上述的研究结果一致,相对根伸长(或根伸长抑制率)可作为诊断抗生素对植

物毒性的敏感指标。

Migliore等^[13]的一项研究发现低浓度的恩诺沙星(50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)促进了黄瓜等的生长,当浓度达到5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时则表现出抑制作用;另一项研究^[26]还发现在室外

表1 基于植物根伸长的四环素植物毒性阈值($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)与95%的置信区间

Table 1 Toxicity thresholds derived from the plant root elongation ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and the 95% confidence interval

植物种类	EC_{50}	EC_{10}
黑麦草	23.59(20.49~27.16)	6.28(4.43~8.93)
苜蓿	35.64(28.14~45.14)	1.57(0.84~2.97)
黄瓜	10.74(7.30~15.80)	0.77(0.31~1.93)
番茄	8.52(5.82~12.46)	0.50(0.20~1.26)
胡萝卜	40.61(32.09~51.39)	3.23(1.83~5.71)
南瓜	51.98(34.83~77.58)	2.51(0.95~6.58)
莴笋	55.41(22.18~138.37)	8.36(1.71~40.89)
玉米	108.38(36.44~322.28)	3.81(0.23~62.18)

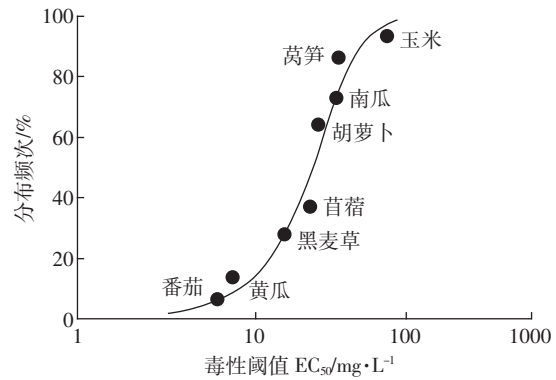


图3 不同植物基于四环素毒性阈值 EC_{50} 的SSD曲线

Figure 3 SSD curves of different plant species based on the threshold value EC_{50} of tetracycline

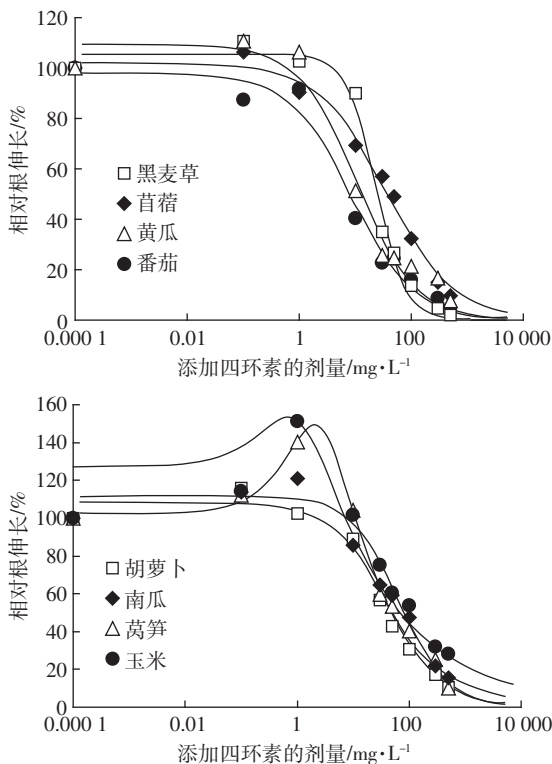


图2 植物根伸长与四环素添加浓度的剂量-效应曲线

Figure 2 Dose-response curves of added tetracycline on root elongation of plants

自然条件下,土霉素和金霉素对玉米的生长表现出符合低剂量刺激效应模型的双相-剂量效应关系。Liu等^[12]最近研究了水培条件下芦笋对盐酸环丙沙星、盐酸四环素与磺胺二甲基嘧啶的吸收累积及抗生素对芦笋根活性、叶绿素含量和抗氧化酶等的影响,结果表明在抗生素浓度 $>10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,抗生素对根活性与叶绿素合成有抑制作用,而在 $0.1\sim1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低浓度范围内,则表现出低剂量刺激效应。本研究发现四环素对8

种不同植物根伸长和芽伸长有低剂量刺激效应,在 $0.1\sim1\text{ }\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内,多数植物均表现出低剂量刺激效应,在浓度 $>10\text{ }\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 表现出毒害作用。本实验表现出的低剂量刺激效应的浓度区间与Liu等^[12]报道的有很大不同,可能是因为测试终点的不同以及不同植物种类对抗生素的敏感性差异造成的。

文献报道中用于污染物剂量-效应关系拟合的方法有线性、对数、多项式拟合等,逻辑斯蒂克分布模型(Log-logistic distribution)多用于重金属与有机污染物如除草剂等对植物毒性的剂量-效应关系拟合^[27-28],本研究将此模型用于抗生素对植物发芽影响的剂量-效应关系拟合,结果表明拟合效果较好,很好地反应了四环素污染对不同植物根伸长的影响,而国内相应报道较少。本研究结果表明植物种类不同,四环素对植物毒性阈值也不同,对8种植物毒性阈值的差异可以归为植物性质的差异,这与Migliore等^[13]和Liu等^[17]的研究结果一致。

土壤中的抗生素可以影响植物的生长,还可以通过植物吸收、富集,在植物的不同部位传输,最终通过食物链进入人体,对人类的健康产生潜在的风险。Liu等^[17]发现不同作物对不同抗生素的敏感性差异很大,其中甜燕麦对磺胺二甲基嘧啶最为敏感。Batchelder^[29]曾报道四环素类抗生素提高了萝卜和小麦的产量但抑制杂豆的产量。Liu等^[12]和焦少俊等^[30]研究表明抗生素可以降低叶绿素的含量从而抑制其光合作用。Farkas等^[31]发现玉米和杂豆对金霉素耐受性的差异主要与过氧化物酶和谷胱甘肽转移酶的表达有关,表明氧化胁迫很有可能是抗生素的植物毒性机理之一。本研究表明,在植物种子发芽实验中,以根伸长为测试终点,番茄和黄瓜对四环素毒害敏感性较强,而禾

本科植物玉米对四环素毒害具有较强耐性。此研究可为四环素类抗生素污染的生态风险指示植物筛选与污染控制提供依据。本文的研究结果是在水溶液处理的条件下得到的,与土壤中四环素对植物毒性影响之间可能会存在一定的差异,下一步有必要进行土壤条件下四环素植物毒性影响方面的研究。目前有关抗生素对植物毒性及其机理方面的研究还比较少,尤其在剂量-效应关系的模型拟合方面的研究还有待深入。

4 结论

(1)在四环素浓度为 $10\sim 500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下,随着添加四环素浓度的增加,不同植物的芽伸长和根伸长显著降低。添加相同浓度的四环素对不同植物的芽伸长和根伸长影响的差异较大,这种差异可能与植物品种的不同有关。不同植物种子芽伸长和根伸长对四环素生态毒性的敏感性均表现为:根伸长>芽伸长。

(2)四环素对植物种子根伸长显示出低剂量刺激效应。在添加四环素浓度 $>10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,四环素对8种植物的根伸长有抑制作用,而在 $0.1\sim 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低浓度范围内,多数植物均显示出低剂量刺激效应。

(3)不同植物对四环素毒性的敏感性分布频次的顺序为番茄>黄瓜>黑麦草>苜蓿>胡萝卜>南瓜>莴笋>玉米。结果表明,在所测试的不同品种植物中,番茄和黄瓜是对溶液中四环素比较敏感的品种,而禾本科植物(玉米)对四环素毒害的响应最不敏感。

参考文献:

- [1] 贺德春,许振成,吴根义,等.四环素类抗生素环境行为研究进展[J]. 动物医学进展, 2011, 32(4): 98-102.
- [2] HE De-chun, XU Zhen-cheng, WU Gen-yi, et al. Advance in heat stress mechanism effect in animals[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2011, 32(4): 98-102.
- [3] Baguer A J, Jensen J, Krogh P H. Effects of the antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna[J]. *Chemosphere*, 2000, 40: 751-757.
- [4] 孔维栋,朱永官. 抗生素类兽药对植物和土壤微生物的生态毒理效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1): 1-9.
- [5] KONG Wei-dong, ZHU Yong-guan. A review on ecotoxicology of veterinary pharmaceuticals to plants and soil microbes[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2007, 2(1): 1-9.
- [6] 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.
- [7] ZHANG Shu-qing, ZHANG Fu-dao, LIU Xiu-mei, et al. Determination and analysis on main harmful composition in excrement of scale live-stock and poultry feedlots[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(6): 822-829.
- [8] Aust M O, Godlinski F, Travis G R, et al. Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after subtherapeutic use in cattle[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156(3): 1243-1251.
- [9] Hu X, Zhou Q, Luo Y. Occurance and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, Northern China[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(9): 2992-2998.
- [10] 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): 566-570.
- [11] BAO Yan-yu, ZHOU Qi-xing, XIE Xiu-jie. Influence of tetracycline kind antibiotics on the control of wheat germination and root elongation[J]. *China Environmental Science*, 2008, 28(6): 566-570.
- [12] Pang Y, Brown B A, Steingrube B A. Tetracycline resistance determinants in Mycobacterium and Streptomyces species[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1994, 38: 1408-1412.
- [13] Rooklidge S J. Environmental antimicrobial contamination from terracumulation and diffuse pollution pathways[J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 325: 1-13.
- [14] Delépée R, Pouliquen H, Le Bris H. The bryophyte Fontinalis antipyretica Hedw. bioaccumulates oxytetracycline, flumequine and oxolinic acid in the freshwater environment[J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 322: 243-253.
- [15] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of flumequine used in intensive aquaculture on the aquatic weed, *Lythrum salicaria* L. [J]. *Chemosphere*, 2000, 40: 741-750.
- [16] Liu L, Liu Y H, Liu C X, et al. Potential effect and accumulation of veterinary antibiotics in phragmites australis under hydroponic conditions[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 53: 138-143.
- [17] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants[J]. *Chemosphere*, 2003, 52: 1233-1244.
- [18] 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: 187-193.
- [19] Leung H W, Minh T B, Murphy M B. Distribution, fate and risk assessment of antibiotics in sewage treatment plants in Hong Kong, South China[J]. *Environment International*, 2012, 42: 1-9.
- [20] 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.
- [21] JIN Cai-xia, CHEN Qiu-ying, LIU Jun-jun, et al. The Eco-toxicological effect of two common veterinary drugs on crop germination[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(3): 619-625.
- [22] Liu F, Ying G G, Tao R, et al. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities [J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157: 1636-1642.
- [23] Maltby L, Brock T C M, Van den Brink P J. Fungicide risk assessment for aquatic ecosystems: Importance of inter specific variation, toxic mode of action, and exposure regime[J]. *Environmental Science Technology*, 2009, 43(19): 7556-7563.
- [24] ISTA (International Seed Testing Association), International rules for seed testing: Annexes[J]. *Seed Science and Technology*, 1985, 13: 356-513.

- [20] Schabenberger O, Tharp B E, Kells J J, et al. Statistical test for hormesis and effective dosages in herbicide dose-response[J]. *Agronomy Journal*, 1999, 91: 713-721.
- [21] <http://www.csiro.au/Outcomes/Environment/Australian-Landscapes/BurriOZ.aspx>.
- [22] Martínez-Carballo E, González-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: 570-579.
- [23] Aldenberg T, Slob W. Confidence limits for hazardous concentrations based on logistically distributed NOEC toxicity data[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1993, 25: 48-63.
- [24] 雷炳莉, 黄圣彪, 王子健. 生态风险评估理论和方法[J]. 化学进展, 2009, 21(2/3): 350-358.
LEI Bin-li, HUANG Sheng-biao, WANG Zi-jian. Theories and methods of ecological risk assessment[J]. *Progress in Chemistry*, 2009, 21(2/3): 350-358.
- [25] 葛成军, 俞花美, 焦 鹏. 两种四环素类兽药抗生素对白菜种子发芽与根伸长抑制的毒性效应[J]. 生态环境学报, 2012, 21(6): 1143-1148.
GE Cheng-jun, YU Hua-mei, JIAO Peng. Toxicological effects of two tetracycline antibiotics on the inhibition of seed germination and root elongation of Chinese cabbages[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2012, 21(6): 1143-1148.
- [26] Migliore L, Godeas F, Filippis S P D, et al. Hormetic effect(s) of tetracyclines as environmental contaminant on *Zea mays* [J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158: 129-134.
- [27] 林 蕾, 陈世宝, 程旺大, 等. 基于不同终点测定土壤中 Zn 的毒性阈值及其田间验证[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(3): 548-555.
LIN Lei, CHEN Shi-bao, CHENG Wang-da, et al. Toxicity thresholds (EC_x) of Zn in soils as determined by different endpoints and its validations in fields[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(3): 548-555.
- [28] Seefeldt S S, Jensen J E, Fuerst E P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships[J]. *Weed Technology*, 1995, 9(2): 218-227.
- [29] Batchelder A R. Chlortetracycline and oxytetracycline effects on plant growth and development in soil systems[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1982, 11(4): 675-678.
- [30] 焦少俊, 窦艳艳, 陈良燕, 等. 四环素对苦草 (*Vallisneria natans*) 生长及细胞超微结构的影响[J]. 环境化学, 2008, 24(3): 335-338.
JIAO Shao-jun, DOU Yan-yan, CHEN Liang-yan, et al. Effect of aqueous tetracycline on *Vallisneria natans* in growth and ultrastructure[J]. *Environmental Chemistry*, 2008, 24(3): 335-338.
- [31] 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.