

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20120820001

李通, 金彩霞, 朱雯斐, 等. 环丙沙星对3种作物的毒性[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(3): 442-446

Li T, Jin C X, Zhu W F, et al. Toxicity of ciprofloxacin to three crops [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(3): 442-446 (in Chinese)

## 环丙沙星对3种作物的毒性

李通\*, 金彩霞, 朱雯斐, 刘国光, 刘海津, 郑立庆

河南师范大学环境学院 河南省环境污染控制重点实验室 黄淮水环境与污染防治教育部重点实验室, 新乡 453007

**摘要:** 为了研究环丙沙星对作物的毒性效应, 为其可能对农业生产带来的风险提供评价依据, 采用急性毒性实验方法, 研究了环丙沙星对3种作物(玉米、萝卜和小白菜)种子发芽、根伸长及芽伸长的影响。结果表明, 在环丙沙星作用下, 3种作物的根伸长抑制率和芽伸长抑制率与药物浓度显著相关( $P < 0.05$ ), 发芽抑制率与药物浓度不相关( $P > 0.05$ ); 药物对根伸长及芽伸长的抑制高于对种子发芽的抑制; 环丙沙星对玉米、萝卜和小白菜的根伸长和芽伸长的 $ID_{50}$ (抑制率为50%时污染物浓度)分别为7.97、2.51、1.48  $mg \cdot kg^{-1}$ 和11.23、2.90、1.95  $mg \cdot kg^{-1}$ , 3种作物在环丙沙星的胁迫下, 其敏感性顺序为: 小白菜 > 萝卜 > 玉米。

**关键词:** 环丙沙星; 芽伸长; 根伸长; 抑制率; 敏感性

文章编号: 1673-5897(2013)3-442-05 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Toxicity of Ciprofloxacin to Three Crops

Li Tong\*, Jin Caixia, Zhu Wenfei, Liu Guoguang, Liu Haijin, Zheng Liqing

Key Laboratory for Yellow River and Huai River Water Environment and Pollution Control, Ministry of Education, Henan Key Laboratory for Environmental Pollution Control, School of Environment, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

Received 20 August 2012 accepted 16 October 2012

**Abstract:** To study the toxic effects of ciprofloxacin (CPFX) on crops and provide risk assessment on agricultural production, toxic effects of CPFX on seed germination and the elongation of root and shoot of corn, radish and Chinese cabbage were investigated using acute toxicity test. Results showed that there was a dose-response relationship between the concentration of CPFX and the inhibitory rate of crop root elongation and shoot elongation ( $P < 0.05$ ), but no correlation was found between the concentration of CPFX and the inhibitory rate of crop seed germination ( $P > 0.05$ ). The inhibitory effect of CPFX on root and shoot elongation was much stronger than those on seed germination.  $ID_{50}$  (the concentration when the inhibitory rate reached 50%) of CPFX on root and shoot elongation of corn, radish and Chinese cabbage, were 7.97, 2.51, 1.48  $mg \cdot kg^{-1}$  and 11.23, 2.90, 1.95  $mg \cdot kg^{-1}$ , respectively, which meant that the sensitivity of CPFX on the three crops was: Chinese cabbage > radish > corn.

**Keywords:** CPFX; root elongation; shoot elongation; inhibition rate; sensitivity

随着我国大中城市和乡镇集约化畜禽养殖业的迅速发展, 含有各种兽药抗生素的畜禽粪便的年产出

收稿日期: 2012-08-20 录用日期: 2012-10-16

基金项目: 国家自然科学基金"不同植物根-土界面磺胺类药物环境行为及生物有效性"(21107023); 河南省基础与前沿项目(112300413218, 132300410139); 河南省教育厅科学技术研究重点项目(12A610007)

作者简介: 李通(1987-)男, 硕士, 研究方向为土壤生物修复, E-mail: yitian30821@163.com

量在不断增加。大量的畜禽粪便排放是构成我国抗生素面源污染的主要原因之一。然而,研究表明,抗生素类药物只有15%可被吸收利用,大约85%未被代谢而被直接排放到环境中,导致生态环境中检测出的兽药种类和浓度逐年增加<sup>[1]</sup>。2002年Campagnolo等<sup>[2]</sup>在猪和家禽大型养殖场储便池中检测到多种畜用抗生素(浓度 $>100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ),并在其附近的地表水及地下水中检测到 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 水平的同类抗生素。随着兽药的大量使用,其在环境中的累积浓度亦在增加,Hamscher等<sup>[3]</sup>报道,在施用厩肥的土壤表层,检测到了土霉素和金霉素的残留,其最大浓度竟分别高达 $32.3$ 和 $26.4\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。绝大多数抗生素以原药或代谢产物的形式经动物的粪尿排出,通过一定的途径进入农田,使作物的生存环境发生变化,对植物的生长发育造成不同的影响。仅有的研究表明,施用动物粪肥和污泥后,作物产量降低。这除了与氮和重金属的过度施用有关外,在某种情况下也与粪肥和污泥中的兽药残留有关<sup>[4]</sup>。植物不同组织对污染物毒性反应不同,根系和叶是植物体内污染物主要的蓄积场所,它们对污染物的反应较明显。对农作物而言,兽药残留对植物的危害有两种情况<sup>[5]</sup>,一是反映在农作物减产或品质降低;二是反映在可食部分有毒物质积累已超过允许限量,但农作物产量却没有明显下降或不受影响。药物对植物生长发育的影响取决于药物的类型和剂量,药物与土壤吸附能力及其在土壤中的稳定性,同时药物对作物的影响还随药物和植物的品种不同而不同。土霉素和氯四环素对杂色豆的生长有明显的抑制作用,具体表现为:植株的生节、鲜质量下降,并影响植物对钙、钾和镁等离子体的吸收。土霉素和氯四环素能促进萝卜和小麦的生长,但对玉米的生长却没有影响<sup>[6]</sup>。目前,国内外关于有机农药和重金属污染土壤对植物生长发育影响的报道很多,而针对兽药在土壤中残留及其对植物的毒性作用方面的研究却鲜有报道,因此急需开展相关方面的研究。

目前已建立的高等植物毒理实验方法主要有3种:根伸长实验、种子发芽实验和植物幼苗早期生长实验<sup>[7-9]</sup>。虽然有关用这些方法进行土壤污染现场修复以及土壤生物修复过程的污染诊断研究已有较多报道<sup>[10-11]</sup>,但目前针对此法探究抗生素兽药残留污染开展的毒理学实验还较少,因此,有必要展开相关方面的研究。

通过研究环丙沙星对玉米、白菜、萝卜种子发芽、根伸长和芽伸长的影响,旨在揭示环丙沙星的毒

性效应,以及对可能对农业生产带来的生态风险。

## 1 材料与方法(Materials and methods)

### 1.1 实验材料

供试药品:环丙沙星盐酸盐一水合物,纯度 $>98\%$ 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司。

供试种子和土壤:小白菜(*Brassica chinensis* L. 品种为上海青),发芽率为 $98\%$ ;萝卜(*Raphanus Sativus* L. 盛丰二号),发芽率 $80\%$ ;玉米(*Zea mays* L. 郑单958),发芽率为 $98\%$ 。以上3种种子均购自新乡市种子公司。供试土壤采自河南师范大学校内生物实验田 $0\sim 20\ \text{cm}$ 表土。

### 1.2 实验方法

用甲醇配置 $250\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的环丙沙星母液,然后依次根据需要配成不同浓度的环丙沙星水溶液。称取 $50\ \text{g}$ 风干土壤于 $90\ \text{mm}$ 直径的玻璃培养皿中,分别加入不同浓度的环丙沙星水溶液 $5\ \text{mL}$ ,搅拌均匀,并用去离子水调节土壤含水量至田间最大持水量的 $60\%$ ,用镊子将玉米、萝卜、小白菜种子均匀播种于土壤中(种子放置时,保持种子胚根末端和生长方向呈直线),盖好玻璃培养皿,并置于恒温培养箱中 $25^\circ\text{C}$ 下暗处培养。培养期间,通过称量质量用去离子水补充蒸发损失的水分。设不含环丙沙星为对照组,同时设1组未播种种子的空白实验,以此了解实验期间内,环境条件对环丙沙星浓度的影响。当对照种子的发芽率 $>90\%$ ,根长度为 $20\ \text{mm}$ 时,结束实验。确定种子根和芽伸长抑制浓度,使其抑制率在 $10\%\sim 70\%$ 之间,开始正式实验,抑制率(IR)按下式计算:

$$\text{抑制率(IR)} = \frac{\text{处理浓度下根(芽)伸长} - \text{对照根(芽)伸长}}{\text{对照根(芽)伸长}} \times 100\%$$

预实验结果显示,玉米、萝卜和小白菜的实验培养天数较短,且相差不大,均为 $4\sim 5\ \text{d}$ ,且提取测定了实验前后空白土样中的环丙沙含量,研究发现,实验前后环丙沙星浓度基本未变化,这表明外界环境条件(如含水量、暴露时间等)对环丙沙星浓度的影响可以忽略不计。根据预实验结果,环丙沙星的处理浓度分别为:玉米为 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $5.0$ 、 $10.0$ 和 $20.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;萝卜为 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $3.0$ 和 $5.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;小白菜为 $0.1$ 、 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $2.0$ 和 $4.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。每个培养皿中放入 $20$ 粒种子作1次重复,每个浓度设3次重复,同时设不含环丙沙星为空白对照组。在与预实验相同条件下进行作物种子发芽和生长培养实验。实验结束后,测定各处理浓度下种子的根伸长、芽伸长,计算根长度和芽长度的平均值和标准偏差,并绘制浓

度-抑制率曲线 进行回归分析 并计算 $ID_{50}$  (抑制率为50%时 土壤中环丙沙星的浓度  $mg \cdot kg^{-1}$ )。

### 1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 和 Origin 7.5 数据处理软件(美国 Microcal Software 公司)对数据进行方差分析及回归分析,计算出  $ID_{50}$  对剂量-效应曲线进行拟合并作图。本实验差异显著性水平为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果与讨论(Results and discussion)

### 2.1 环丙沙星污染对作物种子发芽、芽伸长和根伸长的影响

作物根伸长、芽伸长与土壤中环丙沙星浓度的关系见图1和表1。由图1和表1的 $R^2$ 值可知 在土壤受到环丙沙星污染时 土壤中污染物的含量与上述3种作物的根伸长及芽伸长抑制率显著相关( $P < 0.01$ ),而3种作物(玉米、萝卜、小白菜)的发芽抑制率与土壤中环丙沙星浓度之间不具有相关性( $P > 0.05$ )。

表1 环丙沙星对3种作物生长抑制的回归方程

Table 1 Regression equation of CPMX for inhibitory rate of growth of three crops

作物种类	回归方程	$R^2$	P	$ID_{50}$
玉米	RI = 3.2635X + 23.984	0.9029	<0.01	7.97
	SI = 3.8340X + 6.9501	0.9319	<0.01	11.23
	GI = 0.9269X + 14.053	0.6083	>0.05	
萝卜	RI = 12.179X + 19.422	0.9453	<0.01	2.51
	SI = 14.712X + 7.293	0.9289	<0.01	2.90
	GI = 10.086X + 7.4023	0.6257	>0.05	
小白菜	RI = 13.542X + 29.719	0.9629	<0.01	1.48
	SI = 16.831X + 17.686	0.9289	<0.01	1.95
	GI = 3.2653X + 3.0367	0.7062	>0.05	

注: RI 指根伸长抑制率(inhibitory rate of root elongation); SI 指芽伸长抑制率(inhibitory rate of shoot elongation); GI 指发芽抑制率(inhibitory rate of germination); X 指环丙沙星的浓度  $mg \cdot kg^{-1}$ 。

由表1的 $ID_{50}$ 值可以看出 环丙沙星对3种作物根伸长的抑制作用都强于对芽伸长的抑制 即在环丙沙星的胁迫下 上述3种作物的根伸长均较芽伸长敏感。

综合以上分析可知 相比于其他2个指标(芽伸长、发芽率) 根伸长对环丙沙星浓度的变化最为敏感 其对环丙沙星毒性敏感顺序依次是: 根伸长 > 芽伸长 > 发芽率 这与宋玉芳等<sup>[12]</sup>和鲍艳宇等<sup>[13]</sup>研究的其他污染物对作物的生态毒性效应是相一致的。这可能与种子发芽和根伸长的生长过程有关。通常情况下 植物种子发芽过程除了受外界环境条件影响

外 还可从胚内得到养分供应 在较低浓度污染物的胁迫下 土壤污染对植物种子发芽的毒害作用在一定范围内仅表现为部分抑制 只有当土壤受到严重污染时 种子发芽才能完全被抑制 而根从一开始就完全暴露于土壤中 其生长和发育全过程受外界条件的影响较大 因此 根对土壤污染的反应更敏感<sup>[12]</sup>。

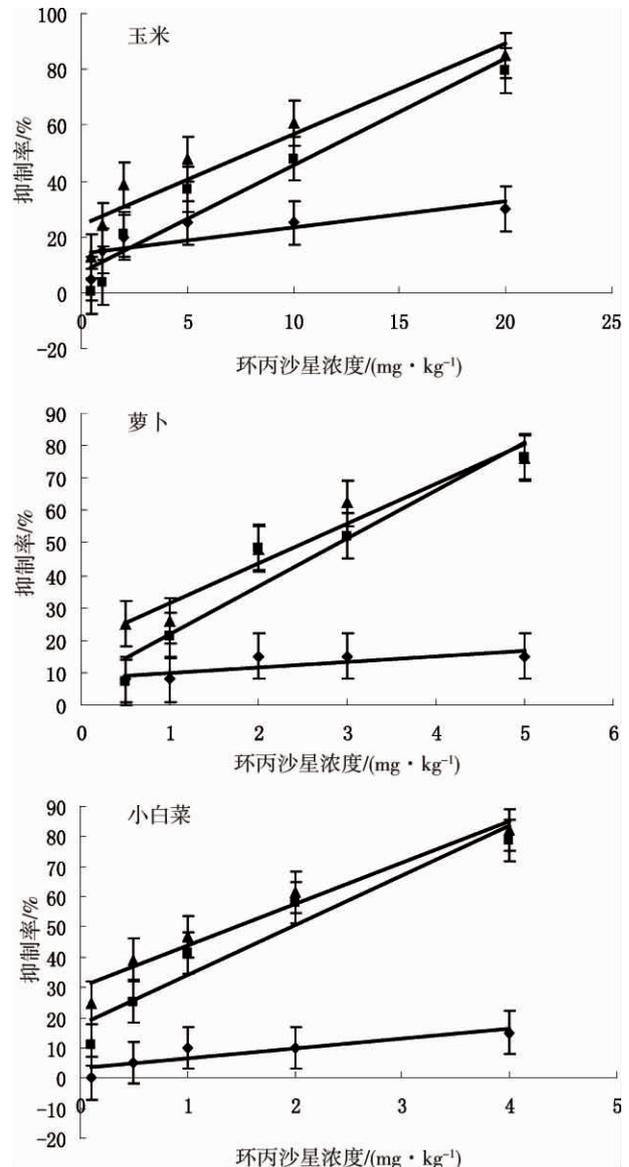


图1 环丙沙星对3种作物发芽(◆)、芽伸长(■)和根伸长(▲)的抑制

Fig. 1 Effect of ciprofloxacin (CPMX) on seed germination(◆) and elongation of root(■) and shoot(▲) of three crops

另外 由图1还可以看出 无论是玉米、萝卜还是小白菜 其芽伸长抑制率与根伸长抑制率之间的差异均随着环丙沙星浓度的增大而逐渐减小。当土壤中

环丙沙星的浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 玉米、萝卜、小白菜3种作物芽伸长与根伸长抑制率之间差异分别是12.65%、17.75%和13.86%。然而当土壤中环丙沙星的浓度达到3种作物各自最高浓度(玉米为  $20.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 萝卜为  $5.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 小白菜为  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 时, 环丙沙星对3种作物根伸长与芽伸长抑制率基本相近, 差异非常不显著, 最大相差仅为5.43%。这可能是由于环丙沙星浓度较高时, 土壤污染程度严重, 土壤的渗透压增加, 致使部分环丙沙星渗透到种皮内部, 从而影响作物生长, 这种情况下种皮对芽的保护作用消失, 从而较大程度地抑制了芽的伸长。

## 2.2 3种作物对环丙沙星的敏感性比较

目前, 经常采用植物的  $ID_{50}$  来评价污染物的毒性强弱<sup>[14]</sup>。不同植物对不同污染物的敏感性不同, 以此可用于筛选针对不同污染物的敏感性指示植物及用于评价不同药物的毒性大小, 从而可为污染物的安全性评价提供依据。由表1可知, 3种作物在环丙沙星的胁迫下, 其敏感性顺序为: 小白菜 > 萝卜 > 玉米。这可能与药物的作用机制及作物的吸收机制有关。抗生素类药物的对植物的毒性主要是植物体内该污染物与叶酸相互竞争的结果, 叶酸与嘌呤合成有关, 而嘌呤是细胞分裂素和脱落酸的前体, 因此植物吸收药物而降低了对叶酸的吸收从而影响了其正常的生理功能<sup>[15]</sup>。环丙沙星可能通过抑制植物体叶酸的合成, 从而抑制其生长, 进而对其根和芽伸长产生了较强的胁迫效应, 但药物对植物生长抑制的具体作用机制有待于进一步实验研究。

综上所述, 可以得到以下结论:

(1) 当土壤受到环丙沙星污染时, 土壤中环丙沙星浓度与3种作物(玉米、萝卜和小白菜)的根伸长和芽伸长抑制率具有相关性( $P < 0.05$ ), 但与这3种作物种子发芽抑制率之间不具有相关性( $P > 0.05$ )。

(2) 作物的发芽率、根伸长和芽伸长对环丙沙星的毒性敏感顺序依次为: 根伸长 > 芽伸长 > 发芽率。

(3) 从环丙沙星对玉米、萝卜和小白菜根伸长的  $ID_{50}$  值判断, 3种作物在环丙沙星的胁迫下, 其敏感性顺序分别为: 小白菜 > 萝卜 > 玉米。

## 参考文献:

- [1] Montforts M H M M. Environmental Risk Assessment for Veterinary Medicinal Products. Part 1: Other than GMO-Containing and Immunological Products. RIVM Report 601300001, N120. [R]. Bilthoven: National Institute of Public Health and the Environment, 1999
- [2] 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
- [3] Hamscher G, Sczesny S, Háper N H. 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
- [4] Ince N H, Dirilgen I G, Tezcanli A G, et al. Assessment of toxic interactions of heavy metals in binary mixtures: A statistical approach [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1999, 36(4): 365-372
- [5] 李建政. 环境毒理学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 130-131
- [6] Li J Z. Environmental Toxicology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 130-131 (in Chinese)
- [7] Batchelder A R. Chlortetracycline and oxytetracycline effects on plant growth and development in soil systems [J]. Journal of Environment Quality, 1982, 11(4): 675-678
- [8] International Organization for Standardization (ISO). Soil Quality-Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora. Part 1: Method for the Measurement of Inhibition of Root Growth [S]. Beijing: China ISO, 1993
- [9] International Organization for Standardization (ISO). Soil Quality-Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora. Part 2: Effects of Chemicals on the Emergence and Growth of Higher Crops [S]. Beijing: China ISO, 1993
- [10] Greene J C, Bartels G L, Warren-Hicks W J. Protocols for Short-Term Toxicity Screening of Hazardous Waste Sites. EPA/600/3-88/029 [S]. Washington DC: U S Environmental Protection Agency, 1998
- [11] Gong P, Wilke B M, Strozzi E, et al. Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early seedling growth test for the use in the eco-toxicological assessment of soils [J]. Chemosphere, 2001, 44(3): 491-500
- [12] Song Y F, Xu H X, Ren L P, et al. Inhibition and ecotoxicity of heavy metals pollution on vegetable growth in soil [J]. Agro-Environmental Protection, 2003, 22(1): 13-15
- [13] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍, 等. 土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应 [J]. 环境科学, 2002, 23(1): 103-107

- Song Y F, Xu H X, Ren L P, et al. Eco-toxicological effects of heavy metals on the inhibition of seed germination and root elongation of Chinese cabbages in soils [J]. *Environmental Science*, 2002, 23(1): 103-107 (in Chinese)
- [13] 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
- 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): 566-570 (in Chinese)
- [14] 周启星,王美娥. 土壤生态毒理学研究进展与展望[J]. *生态毒理学报*, 2006, 1(1): 1-11
- Zhou Q X, Wang M E. Researching advancement and prospect of soil ecotoxicology [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(1): 1-11 (in Chinese)
- [15] 张浩,罗义,周启星. 四环素类抗生素生态毒性研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(2): 407-413
- Zhang H, Luo Y, Zhou Q X. Research advancement of eco-toxicity of tetracycline antibiotics [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2): 407-413 (in Chinese) ◆

## 专辑推介

《生态毒理学报》2012年第5期出版了“全氟辛烷磺酸盐(PFOS)替代品环境危害、风险评价及替代品开发战略”专辑,中国科学院生态环境研究中心查金苗老师为该专辑的客座主编;2013年第2期出版了“砷污染及其生态健康影响研究”专辑,客座主编为中国科学院生态环境研究中心的孙国新老师和朱永官老师。这两个专辑出版后,受到了相关领域专家、学者和研究人员的广泛关注,促进了学术交流。

为了纪念本刊编委大连理工大学金一和老师,2013年第5期将出版“多卤代有机污染物的环境行为与毒理效应研究”专辑,由大连理工大学陈景文老师担任客座主编。2014年,本刊将继续推出生态毒理学领域热点问题的系列专辑,目前已邀请到中国农业科学院农业资源与农业区划研究所马义兵老师担纲“铜污染及其生态健康影响研究”专辑的客座主编,中国科学院生态环境研究中心的许宜平老师担纲“化学品风险评估与风险控制技术研究”专辑的客座主编。

在此,《生态毒理学报》诚邀广大科研工作者集思广益,向我们提供高质量的前沿性专题信息。与此同时,本刊网站上将提前发布专辑内容,欢迎相关专题的科研工作者踊跃投稿。