

粪源抗生素金霉素和喹乙醇在养殖水体中的残留及对锦鲤的生态毒理效应研究

魏瑞成, 包红朵, 郑 勤, 侯 翔, 李 维, 王 冉

(江苏省农科院食品质量与安全检测研究所/农业部食品安全监控重点开放实验室/江苏省畜禽产品安全性研究重点实验室, 江苏南京 210014)

摘 要 用含不同剂量金霉素和喹乙醇的猪粪饲喂锦鲤, 分别测定摄食 10、20 和 30 d 时肌肉组织中抗生素含量、体表和消化道微生物数量, 试验结束时对肝脏中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性和脂质过氧化物丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量进行了测定。结果表明, 猪粪中金霉素和喹乙醇在养殖水体中溶出存在较大差异, 从试验第 1 d 到结束养殖水体中喹乙醇浓度 III 和 IV 组分别为 $0.05\sim 0.32\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.12\sim 0.70\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 锦鲤肌肉组织中喹乙醇浓度 III 和 IV 组在试验的 10、20 和 30 d 分别为 1.87 、 5.25 、 $3.83\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 2.96 、 4.33 、 $4.23\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。没有在水环境和锦鲤体内检测到金霉素。锦鲤体表和消化道微生物随着加样次数增加, 数量也急剧上升。猪粪中的成分能显著降低 SOD 酶活性, 增加 MDA 含量, 而加入金霉素和喹乙醇也未能使锦鲤肝脏 SOD 活性和 MDA 含量恢复到机体正常水平。

关键词 金霉素 喹乙醇 锦鲤 生态毒理效应

中图分类号 X592 **文献标志码** A **文章编号** 1672-2043(2009)09-1800-06

Chlortetracycline and Olaquinox Residues of Manure-Derived Antibiotics in the Aquatic Water and Their Ecotoxicological Effects on Koi Carp

WEI Rui-cheng, BAO Hong-duo, ZHENG qin, HOU Xiang, LI Wei, WANG Ran

(Institute of Food Safety and Quality, Jiangsu Academy of Agricultural Science; Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Management, Ministry of Agriculture; Jiangsu Provincial Key Laboratory of Animal-Derived Food Safety, Nanjing 210014, China)

Abstract Koi Carp *Cyprinus carpio* was fed with swine manure containing different concentrations of chlortetracycline or olaquinox for 30 days, respectively. The number of micro-organisms of body surface and digestive tract, concentrations of antibiotics in the tissue, superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in liver were determined during the experiment. The results showed that the number of micro-organisms of carp surface and intestinal tract increased with the usage amount of pig manure. Olaquinox residues were detected in the aquatic water with the concentration from 0.05 to $0.70\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and in edible tissue with the level ranged from $1.87\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ to $5.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ while chlortetracycline residues were not found in Koi Carp tissue and their aquatic water in all experimental groups. The pig manure and two antibiotics significantly affect the SOD activity and MDA content of the fish liver and the effect depends on the exposure amount of antibiotics.

Keywords chlortetracycline; olaquinox; Koi Carp; ecotoxicological effects

畜禽粪含有大量未消化的蛋白质, 如干猪粪含粗蛋白质达 19%, 干鸡粪含粗蛋白质 15%~30%, 可以为促进鱼类生长提供部分营养。为了降低养鱼成本, 世

界上许多国家以动物粪便作饲料养鱼的现象非常普遍, 这种做法在亚洲尤其是在中国、越南等国家更是由来已久。

然而, 饲料厂和规模养殖场在巨大经济利益的推动下, 为了促进动物生长和预防疾病的爆发, 普遍的在饲料中添加抗生素。据报道, 动物采食后, 来自饲料中的抗生素除少部分参与机体代谢发挥药效而残留于动物体内, 约有 60%~90% 以母体或代谢物的形式随粪、尿等排泄物进入环境^[1], 对人类和生态系统的破

收稿日期 2009-02-10

基金项目 江苏省农科院基金 (0610801-3) 江苏省农业科技自主创新资金 (cx (08) 102) 环保公益性行业科研专项 (200809092A)

作者简介 魏瑞成 (1979—), 男, 河南商丘人, 助研, 硕士, 主要从事畜禽产品安全与兽药环境毒理等方面的研究。

E-mail: weiruicheng@126.com

通讯作者 王 冉 E-mail: wangran@jaas.ac.cn

坏是现在国际社会最为普遍关注的社会热点问题^[2]。Martinez-Carballo 和 Christian 等研究发现,规模化养殖场的动物粪便中土霉素浓度高达 $29 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,金霉素 $26 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[3],磺胺二甲嘧啶 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[4]。刘新程等^[5]分析了江苏省 181 个集约化养殖场畜禽排泄物样品,其中金霉素最大残留量在 $71.17 \sim 105.75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。而畜禽粪便中的抗生素经迁移等行为进入土壤其残留量变化可在 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \sim \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 数量级之间^[6-7],进入土壤的抗生素将影响植物的生长发育^[8]。

畜禽粪便中含有的药物多数半衰期比较长,容易在池塘中蓄积,一些不易被固相吸附的药物,水中浓度较高,容易引起抗生素在鱼体内富集,造成某些药物超标或检出水产品中不得检出的药物,引发食品安全事件。2006 年的“多宝鱼”事件就是由包括硝基呋喃类、氯霉素、红霉素等多种禁用鱼药残留引起的。而且动物肠道微生物和粪便微生物长期暴露于抗生素的选择压下,会诱发耐药菌产生,这种耐药菌可能会感染动物和人,耐药基因也可能在细菌、动物和人之间传播^[9-10]。

已有的研究多是考虑动物粪便作为鱼料的营养价值和饲喂转化率^[11-13],而很少关心粪便中的重金属、抗生素对水环境中微生态系统的影响和在鱼体内的蓄积污染以及鱼体含有的抗生素能否引发食品安全事件;或者脱离抗生素存在的方式仅研究单独饲喂抗生素对水生生物的生态毒性效应^[14-15],没有考虑抗生素在不同介质中的行为差异导致水环境中残留量变化^[16]。

金霉素和喹乙醇是目前畜禽常用的两种饲用抗生素,喹乙醇是水产养殖中禁用药物。为了研究并掌握施入含有抗生素的动物粪便对鱼的影响,本文将上述两种应用广泛的抗生素加入到猪粪中饲喂锦鲤,通过对养殖水和鱼体中的金霉素和喹乙醇残留富集、微生物污染和肝脏 SOD 活性等指标追踪试验,揭示上述测定指标与有抗猪粪之间的关系,为正确评估粪源抗生素对鱼塘水环境和水产品的影响提供理论依据,为进一步研究经畜禽排泄物进入水环境的抗生素对人类健康的影响和危害程度提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验鱼和猪粪样品

健康锦鲤购自南京市夫子庙观赏鱼市场,体长 2 cm 左右。猪粪取自江苏省农业科学院兽医所试验猪

场,经测定,其中不含本试验用两种抗生素。

1.1.2 试剂与仪器

金霉素和喹乙醇由江苏省农科院饲料厂提供,纯度分别为金霉素 10%,喹乙醇 98%。盐酸金霉素标准品(纯度 $\geq 99.0\%$),Dr. Ehrenstorfer 产品,喹乙醇标准品(纯度 $\geq 99.7\%$),中国兽药监察所。SOD 和 MDA 试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

Biofuge 高速离心机,配 DAD 和 VWD 检测器的 Agilent 1100S 高效液相色谱仪,LAMDA-25 紫外分光光度计。

1.2 方法

1.2.1 试验设计

将试验鱼放入水族箱暂养 7 d 适应试验环境,水族箱为 80 cm (长) $\times$ 50 cm (宽) $\times$ 60 cm (高),水面高度 15 cm。之后随机分成 6 组,每组 40 尾,设立金霉素低浓度组(I)、金霉素高浓度组(II)、喹乙醇低浓度组(III)、喹乙醇高浓度组(IV)、对照组(V)和空白组(VI)。试验期内不换水,持续充氧,水源为经曝气去氯处理后的自来水。第一次按每平方米水面投喂 150 g 风干猪粪,以后喂量为每平方米水面投喂 75 g。

表 1 试验设计

Table 1 Design of experiment

组别	处理	使用方式
I	金霉素低浓度组	每 5 d 在该组鱼缸内加入一次含 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 金霉素的猪粪
II	金霉素高浓度组	每 5 d 在该组鱼缸内加入一次含 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 金霉素的猪粪
III	喹乙醇低浓度组	每 5 d 在该组鱼缸内加入一次含 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 喹乙醇的猪粪
IV	喹乙醇高浓度组	每 5 d 在该组鱼缸内加入一次含 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 喹乙醇的猪粪
V	对照组	每 5 d 在该组鱼缸内加入一次不含这两种抗生素的猪粪
VI	空白组	养殖水中不含粪便和任何抗生素

每天采集各组水样,测定其中金霉素和喹乙醇浓度,每 10 d 每组随机抽取 5 尾鱼,分别测定鱼体表和消化道中的菌落总数、沙门氏菌和志贺氏菌数量及鱼体肌肉组织中金霉素和喹乙醇残留量。试验结束后测定肝脏中 SOD 活性和 MDA 含量,试验期 30 d。

1.2.2 微生物样品的采集与测定

菌落总数检测,在活鱼体背侧相同部位取 1 cm^2 体表粘液,放入 10 mL 无菌生理盐水中;将鱼体和手术剪消毒,剪开鱼腹,取出消化道,去掉肝、胆和附脂,捣碎,取 1 g 样品,溶于 9 mL 无菌生理盐水中。参照

文献[17]方法测定其中的菌落总数。

沙门氏菌和志贺菌属检测,参照文献[18-19]方法培养体表粘液和内脏捣碎物。

1.2.3 肝脏样品的采集和酶指标测定

肝脏 将鱼置冰盘内解剖,取出全部肝脏,然后用去离子水清洗干净,用滤纸吸干,液氮速冻, -20°C 冰箱保存。肝脏中 SOD 活力和 MDA 含量按南京建成生物工程研究所试剂盒提供的方法进行测定。

1.2.4 样品中金霉素和喹乙醇的测定

水样 每天采集 I~VI 组中水样,在水深 10 cm 处 5 点采样,每点 5 mL,装入无菌锥形瓶中测定金霉素和喹乙醇的含量,过 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜,待测。肌肉组织,用去离子水清洗去掉肝脏的鱼样,置 -20°C 冰箱保存。参照参考文献[20]的方法测定喹乙醇,参照文献[21-22]的方法测定金霉素。

检测方法经验证 测定喹乙醇和金霉素的检测限分别为 0.04 、 $0.05\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 4 个添加浓度 5 个重复的回收率平均值为 $78.1\%\sim 90.4\%$ 、 $80.3\%\sim 95.7\%$, 相对标准偏差 RSD 均小于 10%,符合本试验要求。

1.2.5 统计分析

数据统计分析采用 Excel 和 SPSS 软件。Duncan 法进行多重比较。

2 结果与讨论

2.1 水体及锦鲤肌肉中金霉素和喹乙醇残留蓄积

在试验 I 和 II 组的养殖水体和鱼肌肉中均未检出抗生素金霉素,但在 III 组和 IV 组的养殖水体和鱼组织中均检出了较高浓度的抗生素喹乙醇,并随喹乙醇剂量的增加而出现明显升高,具有一定的浓度效应,结果见图 1 和图 2。III 组在第 1、2 和 3 次采样所测得的鱼体肌肉组织喹乙醇的残留分别是 1.87 、 5.25 和 $3.83\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; IV 组所测残留分别是 2.96 、 4.33 和 $4.23\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。对照组 V 和空白组 VI 水体和锦鲤肌肉中均未检出金霉素和喹乙醇。

两种抗生素在水体和鱼组织中的残留差异非常大,可能与粪便对不同抗生素的吸附强度有关。Rabolle 和 Spliid^[23]研究发现,土霉素等四环素类药物在不同土壤中的吸附为 $95\%\sim 99\%$ 。王冉等^[24]研究发现,猪粪中的金霉素 $90\%\sim 99\%$ 被吸附,只有不到 3% 能被解吸,该研究还发现,猪粪吸附金霉素主要以快速吸附为主,金霉素一旦被粪便吸附,很难被水解吸出来。一般认为与离子结合的抗生素为吸附能力强的抗生素,在环境中较稳定,容易蓄积,金霉素容易与金

属离子螯合,其在土壤和底泥中的吸附要大于其他类抗生素与土壤和底泥的吸附,而饲料中往往被添加远远超过动物吸收量的钙、铜、铁、锌等金属离子,未被吸收的离子随粪便一起排出影响金霉素在粪便中的吸附,这可能是水体中和鱼组织中未能检出金霉素的原因。

而对于喹乙醇,有文献报道,喹乙醇不易被猪粪吸附^[25], 3 次采样在鱼体肌肉组织内测出的喹乙醇浓度均高于外在水体中喹乙醇的浓度,表明喹乙醇会在鱼体肌肉中形成蓄积,而且蓄积会随着投喂时间的延长而不断增加,这可能是因为喹乙醇在体内吸收、分布比较快,消除比较慢,从而延长了喹乙醇在体内滞留的时间。如果长期使用,就会导致它在体内的蓄积,由此也导致了喹乙醇在锦鲤体内的蓄积量随着投喂时间的延长而不断增加的现象^[26]。

2.2 锦鲤体表、消化道菌落总数和鱼成活率

各处理组锦鲤体表和消化道中的菌落总数和锦鲤的成活率结果见表 2。由表 2 看出, I~V 组锦鲤的

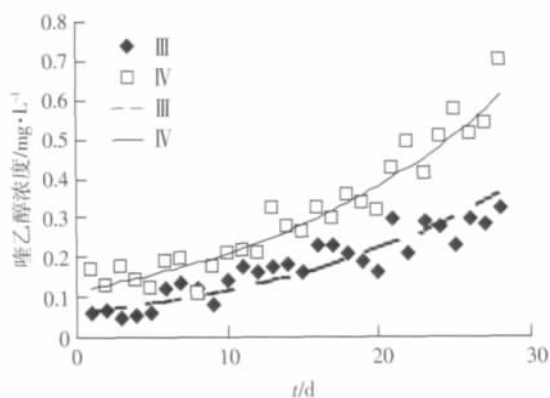


图 1 养殖水体中喹乙醇的浓度

Figure 1 Olaquinox concentration in aquatic water

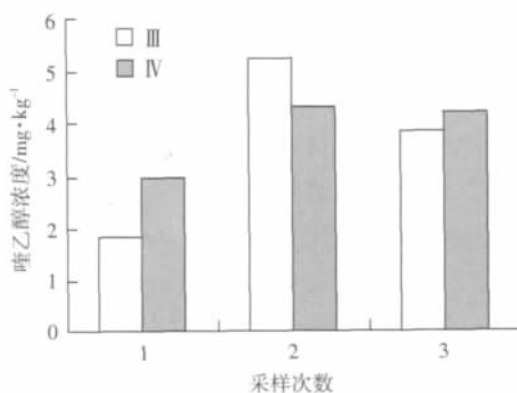


图 2 锦鲤肌肉组织中喹乙醇的残留浓度

Figure 2 Olaquinox residual concentration in muscle tissue of Koi Carp

体表和消化道中的菌落总数都显著高于空白组 VI, 而添加抗生素的 I ~IV 处理组锦鲤的体表和消化道中的菌落总数低于对照组 V, 说明粪源中的抗生素在一定程度上抑制细菌的生长, 其中不易被猪粪吸附的喹乙醇处理组, 由于水环境中存在相对较高浓度的药物, 微生物数量要低于金霉素处理组。I ~VI 组中均没有发现沙门氏菌和志贺氏菌。试验表明, 6 个组锦鲤的成活率顺序为空白组 VI>IV 组>II 组>III 组>I 组>对照组 V。成活率下降可能是由于粪中的物质引起锦鲤机体抵抗力减弱, 免疫力下降, 再加上粪中细菌引起感染, 水质变差等因素导致锦鲤死亡。

表 2 微生物的测定结果和锦鲤成活率

Table 2 The results of micro-organisms and the survival rate of Koi Carp

处理	次	体表粘液菌落总数/ cfu·mL ⁻¹	消化道菌落总数/ cfu·mL ⁻¹	死亡数/ 只
I	1	14×10 ³	58×10 ⁵	13
	2	86×10 ³	47×10 ⁵	
	3	100×10 ³	76×10 ⁵	
II	1	9×10 ³	49×10 ⁵	10
	2	10×10 ³	18×10 ⁵	
	3	46×10 ³	66×10 ⁵	
III	1	19×10 ³	9×10 ⁵	12
	2	4×10 ³	47×10 ⁵	
	3	29×10 ³	41×10 ⁵	
IV	1	13×10 ³	11×10 ⁵	9
	2	10×10 ³	26×10 ⁵	
	3	20×10 ³	25×10 ⁵	
V	1	206×10 ³	139×10 ⁵	17
	2	138×10 ³	135×10 ⁵	
	3	230×10 ³	153×10 ⁵	
VI	1	110	6×10 ⁴	2
	2	180	12×10 ⁴	
	3	170	6×10 ⁴	

2.3 锦鲤肝脏 SOD 活性和 MDA 含量

SOD 的活性可反映机体清除自由基的能力, 对于增强吞噬细胞防御能力和整个机体的免疫功能具有

重要作用, 因而 SOD 经常被用作环境胁迫与水域污染的潜在指标^[27]。MDA 是自由基对不饱和脂肪酸氧化或过氧化的代谢产物, 其含量的高低反映了机体细胞受自由基攻击的程度。因此, 通过测定机体 SOD 活力以及 MDA 含量, 在一定程度上既反映了机体清除氧自由基的能力, 又间接反映机体组织细胞受病原攻击引起损伤的严重程度。

各处理组锦鲤 SOD 活性变化和 MDA 含量见表 3。凡是添加猪粪组锦鲤肝脏中 SOD 活性均低于无粪无抗生素组 VI, MDA 含量均高于无粪无抗生素组 VI, 这说明用猪粪养鱼可以降低机体抗氧化能力, 影响鱼的肝脏酶指标的变化。这可能是受到猪粪中的毒素、一些具有酶抑制活性的抗生素或者猪粪中未知成分的抑制, 其具体原因还要进一步研究。

在所有含猪粪的各试验组中发现, 处理组 V 的 SOD 活性低于其他各组, I ~IV 组加入的抗生素虽能提高 SOD 活性, 却未能达到机体正常水平。

粪便中含有金霉素或喹乙醇可以诱导 SOD 活性提高, 且随剂量的增加酶活性升高, 试验 I ~IV 组肝脏 SOD 活性都要高于对照组 V, II 和 IV 组较显著 ($P < 0.05$)。研究证实, 金霉素或喹乙醇在不同剂量下对 SOD 活性的影响程度不同。叶继丹等^[28]报道, 用含不同剂量喹乙醇 (0~3 200 mg·kg⁻¹) 的饲料饲喂鲤鱼, 其肝胰脏 SOD 活性随饲料喹乙醇剂量的升高总体呈升高的趋势。陈海刚等^[29]把赤子爱胜蚓暴露在喹乙醇和土霉素下发现, 喹乙醇对蚯蚓体内 SOD 酶活力具有明显的促进作用, 并随浓度升高而增强; 土霉素对蚯蚓体内 SOD 酶活力虽没有显著影响, 但在一定范围内随着土霉素浓度增加, SOD 酶活力呈升高趋势。金霉素与土霉素属于四环素类抗生素, 性质有许多相似之处, 本试验结果与上述研究者的结果相同。

本试验条件下抗生素诱导的酶活性增加是有限的, I ~IV 处理组锦鲤 SOD 活性虽然高于对照组 V, 却低于空白组 VI, 并且短时间内金霉素和喹乙醇能够刺激锦鲤提高 SOD 酶活力抵抗外界不良环境, 但是当机体长期处于这种应激状态, 将导致鱼贫血, 破坏

表 3 各试验组锦鲤肝脏中 SOD 活性和 MDA 含量

Table 3 SOD activity and MDA contents in liver of Koi Carp

指标	处理					
	I	II	III	IV	V	VI
SOD/U·mg ⁻¹	16.35±2.08a	17.55±6.08ab	16.74±11.20a	18.35±3.39b	15.48±3.70a	18.71±4.93b
MDA/nmol·mg ⁻¹	1.46±0.24a	1.39±1.50a	1.43±1.10a	1.41±0.83a	1.64±0.51b	1.36±1.86a

注 同行数值间不同字母表明 Duncan 多重比较差异显著。

鱼体抗氧化系统,造成机体细胞损伤^[14-15]。

I~VI处理组锦鲤肝脏 MDA 含量的变化差异不大,这与 SOD 在金霉素和喹乙醇低、高剂量下的活性变化不明显是相适应的。而对照组 V 中 SOD 酶活性是最低的,其 MDA 含量也明显高于其他各组的含量 ($P<0.05$)。

3 结论

(1) 规模养殖场用药量大,饲料中含有多种作为饲料添加剂的抗生素,其中大部分未被吸收的抗生素排入粪便^[1,3-5]。猪粪养鱼,粪源抗生素会因抗生素本身的理化性质不同在鱼组织产生残留,导致食品安全风险。用含金霉素的猪粪养鱼,在鱼组织中未能检出药物残留。而粪源的喹乙醇导致了鱼组织喹乙醇的残留,且锦鲤体内喹乙醇浓度高于体外养殖水中的浓度,表明鱼体内的喹乙醇是由富集产生,食品安全风险较大。喹乙醇也是水产产品中不得检出的药物。

(2) 粪源抗生素可以减少养殖水和鱼体表面以及消化道内的细菌数量,但所有含猪粪的 I~V 处理组锦鲤体表和消化道内菌落总数数量比空白组明显增加 ($P<0.05$)。其中不乏致病性大肠杆菌和粪大肠杆菌,除了能降低鱼的品质还将增加鱼与鱼之间和鱼与人之间疾病传播的机会。

(3) 猪粪养鱼,粪便中的某些物质会抑制机体抗氧化酶系统,影响鱼肝脏酶指标。虽然一些抗生素在某些浓度下能够诱导机体抗氧化酶活性升高,但其作用是有限的,并且短时间内抗生素刺激提高酶活力抵抗外界不良环境,可是当机体长期处于这种应激状态,将造成细胞和组织器官损伤,免疫功能下降。因此,用规模化养殖场的猪粪养鱼存在较大安全风险。

参考文献:

- [1] Halling-Sørensen B, Nors N S, Lanzky P F, et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review[J]. *Chemosphere*, 1998, 36 (2) : 357–393.
- [2] Diaz-Cruz M S, Lopez de Alda M J, Barcelo D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2003, 22 (4) : 340–350.
- [3] 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]. *Environ Pollut*, 2007, 148 (2) : 570–579.
- [4] Christian T, Schneider R J, Färber H A, et al. Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters[J]. *Acta Hydroch Hydrob*, 2003, 31 (1) : 36–44.
- [5] 刘新程,董元华,王 辉. 江苏省集约化养殖畜禽排泄物中四环素类抗生素残留调查[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27 (3) : 1177–1182.
- LIU Xin-cheng, DONG Yuan-hua, WANG Hui. Residues of tetracyclines in animal manure from intensive farm in Jiangsu Province[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27 (3) : 1177–1182.
- [6] Jemba P K. The potential impact of veterinary and human therapeutic agents in manure and biosolids on plants grown on arable land: a review[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2002, 93 : 267–278.
- [7] Thiele-Bruhn S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2003, 166 (4) : 145–167.
- [8] 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 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.
- [9] Sengeløv G, Halling-Sørensen B, Aarestrup F M. Susceptibility of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* isolated from pigs and broiler chickens to tetracycline degradation products and distribution of tetracycline resistance determinants in *E. coli* from food animals[J]. *Vet Microbiol*, 2003, 95 (1–2) : 91–101.
- [10] Teuber M. Veterinary use and antibiotic resistance[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2001, 4 : 493–499.
- [11] Zhu Yun, Yang Ye-jin, Wan Jun-hua, et al. The effect of manure application rate and frequency upon fish yield in integrated fish farm ponds[J]. *Aquaculture*, 1990, 91 : 233–251.
- [12] Wohlfarth G W, Schroeder G L. Potential benefits of manure in aquaculture: a note qualifying the conclusions from our paper on the dominance of algal-based food webs in fish ponds[J]. *Aquaculture*, 1991, 94 (4) : 307–308.
- [13] Soplin P, Preston T R. Effect of processing pig manure in a biodigester as fertilizer input for ponds growing fish in polyculture[J]. *Livestock Research for Rural Development*, 2001, 13 (6) .http://www.lrrd.org/lrrd13/6/pich136.htm.
- [14] 王慧珠,罗 义,徐文青,等. 四环素和金霉素对水生生物的生态毒性效应[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27 (4) : 1536–1539.
- WANG Hui-zhu, LUO Yi, XU Wen-qing, et al. Ecotoxic effects of tetracycline and chlortetracycline on aquatic organisms[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27 (4) : 1536–1539.
- [15] 陈海刚,李兆利,徐 韵,等. 兽药添加剂喹乙醇的生态毒理学效应研究[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25 (4) : 885–889.
- CHEN Hai-gang, LI Zhao-li, XU Yun, et al. Ecotoxicological effects of the veterinary additive olaquindox[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25 (4) : 885–889.
- [16] 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) : 265–270.
- WANG Ran, LIU Tie-zheng, WANG Tian. The fate of antibiotics in environment and its ecotoxicology: a review[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26 (1) : 265–270.
- [17] GB/T 4789. 2—2003. 食品卫生微生物学检验菌落总数测定[S].
- GB/T 4789. 2—2003. Microbiological examination of food hygiene—Detection of aerobic bacterial count[S].
- [18] GB/T 4789. 4—2003. 食品卫生微生物学检验沙门氏菌检验[S].

- GB/T 4789. 4—2003. Microbiological examination of food hygiene—Examination of Salmonella[S].
- [19] GB/T 4789. 5—2003. 食品卫生微生物学检验志贺氏菌检验[S].
- GB/T 4789. 5—2003. Microbiological examination of food hygiene—Examination of Shigella[S].
- [20] 于慧娟, 毕士川, 黄冬梅, 等. 高效液相色谱法测定水产品中喹乙醇的残留量[J]. 分析科学学报, 2004, 20 (3) : 281–283.
- YU Hui-juan, BI Shi-chuan, HUANG Dong-mei, et al. Residue by determination of olaquinox in aquatic products high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Analytical Science*, 2004, 20 (3) : 281–283.
- [21] 刘 丽, 蔡志斌, 张 英. 高效液相色谱法测定水产品中土霉素、四环素、金霉素[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17 (8) : 1405–1406.
- LIU Li, CAI Zhi-bin, ZHANG Ying. Detection of three antibiotics in aquatic products by HPLC[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technol*, 2007, 17 (8) : 1405–1406.
- [22] 魏瑞成, 王 冉, 李 维, 等. 猪粪中金霉素残留的测定方法[J]. 浙江农业学报, 2008, 20 (4) : 291–295.
- WEI Rui-cheng, WANG Ran, LI Wei, et al. Determination method of chlortetracycline residues in pig faeces[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2008, 20 (4) : 291–295.
- [23] Rabolle M, Spliid N H. Sorption and mobility of metronidazole, o-laquinox, oxytetracycline and tylosin in soil[J]. *Chemosphere*, 2000, 40 : 715–722.
- [24] 王 冉, 魏瑞成, 刘铁铮, 等. 兽药金霉素在畜禽粪便上的吸附特征研究[J]. 环境科学, 2008, 29 (5) : 1363–1368.
- WANG Ran, WEI Rui-cheng, LIU Tie-zheng, et al. Sorption characteristics of veterinary antibiotics chlortetracycline on manure[J]. *Environmental Science*, 2008, 29 (5) : 1363–1368.
- [25] Loke M L, Tjornelund J, Halling-Sorensen B. Determination of the distribution coefficient ($\log K_d$) of oxytetracycline, tylosin A, olaquinox and metronidazole in manure[J]. *Chemosphere*, 2002, 48 : 351–361.
- [26] 杨先乐, 胡 鲲, 邱军强. 喹乙醇在鱼体内蓄积及其对鱼类的影响[J]. 水生生物学报, 2005, 29 (1) : 13–18.
- YANG Xian-le, HU Kun, QIU Jun-qiang, et al. Studies on accumulation and toxicity of olaquinox in fishes[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29 (1) : 13–18.
- [27] Achuba F I. Superoxide dismutase and lipid peroxidation levels in fish from the ethiope river in southern Nigeria[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2002, 69 : 892–899.
- [28] 叶继丹, 韩友文, 赵吉伟, 等. 喹乙醇对鲤肝胰脏抗氧化酶系统的影响[J]. 水产学报, 2004, 28 (3) : 231–235.
- YE Ji-dan, HAN You-wen, ZHAO Ji-wei, et al. Effects of dietary o-laquinox on antioxidant enzymes system in hepatopancreas of cyprinus carpio[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28 (3) : 231–235.
- [29] 陈海刚, 李兆利, 徐 韵, 等. 三种兽药添加剂对赤子爱胜蚓体内纤维素酶和 SOD 酶的活性影响[J]. 南京大学学报(自然科学), 2006, 42 (4) : 435–439.
- CHEN Hai-gang, LI Zhao-li, XU Yun, et al. Cellulase and superoxide dismutase activities in the Earthworm *Eisenia foetida* exposed to three veterinary drugs and additives[J]. *Journal of Nanjing University*, 2006, 42 (4) : 435–439.