

抗生素类药物对土壤微生物呼吸的影响

刘锋^{1,2}, 应光国^{1*}, 周启星³, 陶然^{1,2}, 苏浩昌^{1,2}, 李旭^{1,2}

(1. 中国科学院广州地球化学研究所有机地球化学国家重点实验室, 广州 510640; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016)

摘要: 为评价抗生素类药物对土壤生态环境的影响, 通过室内直接吸收法测定了磺胺、四环素、大环内酯类等几类抗生素对水稻土壤微生物呼吸的影响. 结果表明, 磺胺甲噁唑、磺胺甲 唑、氯四环素、四环素、泰乐菌素、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%、38.08%, 以磺胺甲 唑和甲氧苄啶对土壤呼吸影响最大. 在试验早期(0~2 d), 磺胺甲噁唑、磺胺甲 唑和甲氧苄啶的 $\geq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理显著抑制土壤呼吸. 同一种抗生素随着浓度的增加对土壤呼吸的影响不同, 磺胺甲 唑与甲氧苄啶对土壤呼吸的影响表现出很好的剂量依赖效应. 参考农药的安全性评价标准, 可以认为试验中各抗生素属于低毒或无实际危害的药物.

关键词: 直接吸收法; 磺胺; 四环素; 大环内酯类; 抗生素; 土壤呼吸

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)05-1280-06

Effects of Antimicrobial Drugs on Soil Microbial Respiration

LIU Feng^{1,2}, YING Guang-guo¹, ZHOU Qi-xing³, TAO Ran^{1,2}, SU Hao-chang^{1,2}, LI Xu^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China; 2. Graduated University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China)

Abstract: The effects on soil microbial respiration of sulfonamides, tetracyclines, macrolides and so on were studied using the direct absorption method. The results show sulfamethazine, sulfamethoxazole, chlortetracycline, tetracycline, tylosin and trimethoprim inhibit soil respiration 34.33%, 34.43%, 2.71%, 3.08%, 7.13%, 38.08% respectively. Sulfamethoxazole and trimethoprim have the highest inhibition rates among all the antibiotics. In early incubation period (0~2 d), the concentrations above $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of sulfamethazine, sulfamethoxazole and trimethoprim remarkably decrease soil CO_2 emission. The effects of these antibiotics vary with their concentrations too. Sulfamethoxazole and trimethoprim show good dose-response relationships. According to the standard of pesticide safety evaluation protocol, the six antibiotics pose a little risk to soil microbial environment.

Key words: direct absorption method; sulfonamides; tetracyclines; macrolides; antibiotics; soil respiration

全世界每年有大量的药品与个人护理品 (PPCPs) 应用到对人类和动物的疾病防治上^[1]. PPCPs 是具有生物活性的化学物质, 大多以原形或代谢物的形式随动物的粪尿排入环境, 近年来, PPCPs 对环境生物的潜在毒性已经成为国际研究的热点^[2,3]. 抗生素是一类广泛使用抑制细菌保护人类和动物健康的药物^[4]. 抗生素使用后很容易从受体体内排出进入环境, 目前已有越来越多的资料报道环境中抗生素的暴露情况^[5-9], 而对抗生素可能产生的潜在生态环境影响这方面的报道很少^[5,10-12].

抗生素类药物主要通过施用动物排泄物和生物污泥进入农田等陆生生态环境^[13,14]. 本试验选择的 2 种磺胺类药物、2 种四环类, 泰乐菌素和甲氧苄啶等抗生素是当今使用量大, 并且在环境中常常可以检测到^[5-17], 有必要研究它们对生态环境可能产生的影响.

土壤呼吸作用反映了土壤微生物的总活性, 可

以用来作为监测土壤生态环境变化的重要指标^[18-20]. 国内外关于农药对土壤呼吸的影响有大量的文献报道^[20-22], 但关于抗生素类药物对土壤呼吸的研究报道很少^[11,23,24]. 本研究报道了 6 种抗生素类药物对土壤微生物呼吸产生的影响, 以期对抗生素的环境风险评价提供依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 土壤

采集广东省农业科学院水稻试验基地内 0~15 cm 耕作层水稻土, 在室内风干至土壤最大持水量的 20% 左右, 除去土壤中杂物, 将土壤轻柔地磨细过 1

收稿日期: 2008-05-26; 修订日期: 2008-09-18
基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(40688001); 国家自然科学基金项目(40771180)
作者简介: 刘锋(1978~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为有机污染化学和生态毒理学, E-mail: liufeng10@126.com
通讯联系人: E-mail: guangguo.ying@gig.ac.cn

mm 筛后置于 4℃ 冷库中备用. 土壤理化性质如下: 土壤 pH 为 5.68, 有机质含量 $18.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总氮为 $0.959 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总磷为 $0.215 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, CEC 为 $9.87 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, 土壤质地为黏壤土.

1.1.2 药品与试剂

磺胺甲噁唑(纯度 98%)、磺胺甲 唑(纯度 98%)、四环素(纯度 98%)、氯四环素(纯度 98%)、泰乐菌素(纯度 89%)、甲氧苄啶(纯度 96%) 以上试剂购于南京德宝生化器材有限公司. 盐酸、氢氧化钠、氯化钡、酚酞、乙醇、丙酮、甲醇等试剂均为分析纯, 购于广州市芊芸化玻仪器有限公司.

1.2 试验方法

1.2.1 试验处理

磺胺甲噁唑和磺胺甲 唑 2 种抗生素设置 0 (对照)、1、10、40、70、100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 共 6 个处理, 氯四环素、四环素、泰乐菌素、甲氧苄啶 4 种抗生素设置 0 (对照)、1、10、40、70、100、300 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 共 7 个处理, 以上各处理组均设 3 个重复. 磺胺甲噁唑、磺胺甲 唑加入土壤前的母液配置到丙酮中, 四环素、甲氧苄啶母液配置到甲醇中, 氯四环素和泰乐菌素的母液直接配置在灭菌的二次蒸馏水中.

1.2.2 方法与步骤

采用直接吸收法(密闭法)测定土壤微生物呼吸^[21, 22]. 具体试验步骤: 称 50 g 供试土壤(从 4℃ 冷库中提前取出, 室温放置 24 h)到小塑料杯, 加入 0.5 g 葡萄糖, 混匀, 氯四环素、泰乐菌素 2 种抗生素的水溶液可直接加入到土壤, 配置在有机试剂的抗生素母液按设置浓度加入土壤中, 等有机试剂挥发干, 加水调节土壤含水量达最大含水量的 60%, 放于 1 L 可密闭容器(广口塑料瓶)中. 同时将盛放有 20 mL 的 $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠的小白色透明塑料瓶放入密闭容器底部, 盖严广口塑料瓶瓶盖. 放入人工气候培养箱(温度: $25 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 避光, 湿度为 40%) 中培养, 试验设置 3 次重复, 以不加土壤作空白处理. 磺胺类 2 个抗生素分别在培养的 2、4、6、8、12、16、21 d, 氯四环素和泰乐菌素在 2、4、6、9、12、16、21 d, 四环素和甲氧苄啶在 2、4、6、9、13、17、22 d 取出盛氢氧化钠的塑料瓶, 加 1 mL 的 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钡溶液, 加入 2~3 滴酚酞做指示剂, 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸滴定, 记录消耗的盐酸量, 同时换进盛有新鲜氢氧化钠的小塑料瓶.

1.3 数据分析

根据空白与处理的滴定盐酸之差, 计算二氧化碳释放量. 计算结果转化为每 100 g 干土释放二氧

化碳的 mg 量. 各处理与对照比较得抑制率的计算公式:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{(\text{对照值} - \text{处理值})}{\text{对照值}} \times 100$$

数据处理方法: ① Excel 计算二氧化碳的释放量、汇总成表; ② 用 SAS 统计软件将各处理(3 个重复)的二氧化碳释放量做单因素 Duncan 检验.

2 结果与讨论

2.1 磺胺类抗生素对土壤呼吸影响

2.1.1 磺胺甲噁唑对土壤呼吸影响

从表 1 可见, 磺胺甲噁唑加入土壤后, 在 0~2 d, 与对照比较, $\geq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理显著抑制土壤的呼吸作用, 且随着磺胺甲噁唑浓度的增加, 土壤的 CO_2 释放量进一步减少. 在 2~4 d, 除 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理与对照有显著差异外, 其它浓度处理土壤呼吸与对照无显著差异, 表明随着培养时间的增加原来受抑制的处理土壤呼吸得到恢复. 4~6 d 内 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上浓度处理比对照及 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理 CO_2 释放量又达到显著差异, 表明较高浓度的磺胺甲噁唑促进了土壤呼吸作用, 而且这种促进作用随浓度增加而增强. 6~8 d, 70、100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与其它处理的土壤呼吸作用强度达到显著差异. 在 12~21 d, 添加磺胺甲噁唑的处理土壤呼吸作用比对照降低, 且 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上的浓度处理与对照达到显著差异. 总体而言, 在整个试验中, $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度的磺胺甲噁唑与对照之间土壤呼吸差异很小, 而添加 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上浓度的处理土壤呼吸整体上表现出先显著抑制、后明显促进、再显著抑制的特点. 0~21 d 内 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理与对照土壤释放总二氧化碳量(以干土计, 下同)分别为 608.3、602.1 $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, 两者之间差异 $< 1.5\%$, 说明磺胺甲噁唑对土壤呼吸总体影响不大.

2.1.2 磺胺甲 唑对土壤呼吸影响

表 2 中表明, 在 0~2 d, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及以上浓度的磺胺甲 唑处理土壤的呼吸作用受到显著抑制作用, 在相同添加浓度, 磺胺甲 唑比磺胺甲噁唑表现出更强的抑制作用. 2~4 d 内, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度的处理土壤呼吸作用有所恢复, 与对照比较, 对土壤呼吸的抑制作用已经达到显著水平, 而 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上的处理土壤呼吸作用与 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以下的处理及对照达到显著差异. 0~4 d 内, 各处理随着磺胺甲 唑的浓度增加, CO_2 释放量依次减少,

表 1 磺胺甲噁啉对 CO₂ 释放量的影响¹⁾/mg•(100 g)⁻¹
Table 1 Effect of sulfamethazine on CO₂ emission/mg•(100 g)⁻¹

处理浓度 /mg•kg ⁻¹	处理时间/d						
	0~ 2	2~ 4	4~ 6	6~ 8	8~ 12	12~ 16	16~ 21
CK	113.5 a	165.2 ab	122.1 c	37.9 b	48.3 a	57.5 a	63.8 a
1	113.5 a	165.2 ab	124.4 bc	37.8 b	46.8 ab	59.3 a	61.0 a
10	102.0 b	167.5 a	139.3 abc	37.8 b	46.9 ab	51.3 b	60.2 a
40	99.9 b	165.2 ab	143.9 ab	38.5 b	35.4 c	37.8 c	42.7 c
70	97.0 b	163.6 ab	155.9 a	45.8 ab	39.4 bc	40.9 c	49.0 b
100	94.8 b	161.7 b	160.3 a	49.9 a	42.8 abc	41.7 c	50.9 b

1) 数字后面的字母表示 Duncan 检验在 5% 显著差异水平上的检验结果, 各列不同字母表示它们之间达到 5% 水平的显著差异, 下同

表现出明显的剂量依赖性效应. 4~ 6 d 内, 与对照比较, 10、40、70 mg•kg⁻¹ 的处理土壤 CO₂ 释放量显著增加, 并达到显著差异, 而 100 mg•kg⁻¹ 高浓度的土壤呼吸略高于对照但没有与对照达到显著差异, 表明高浓度处理土壤呼吸恢复或激活较慢. 6~ 8 d 内, 10 mg•kg⁻¹ 以上的处理 CO₂ 释放量显著增加, 大于对照, 10 mg•kg⁻¹ 处理土壤呼吸强度将近是对照的 2 倍, 而 40、70、100 mg•kg⁻¹ 处理它们的 CO₂ 释放量比对照多 3 倍左右. 8~ 12 d, 70、100 mg•kg⁻¹ 这 2 个处理的 CO₂ 释放量比对照明显多, 达到 2 倍以上. 12~ 16 d, 100 mg•kg⁻¹ 处理仍然是各处理土壤呼吸最强的一个处理. 16~ 21 d, 各添加磺胺甲

唑处理的土壤 CO₂ 释放量都比对照少, 只有 1、100 mg•kg⁻¹ 这 2 个处理 CO₂ 释放量与对照没有达到显著差异. 总体上, 土壤呼吸对磺胺甲 唑的影响非常敏感, 在 10 mg•kg⁻¹ 以上添加浓度处理表现出在前期较长时间的显著抑制、中期强烈的促进到后期又显现出抑制作用. 0~ 21 d 内 100 mg•kg⁻¹ 处理比对照土壤释放二氧化碳总量多出 139.4 mg•(100 g)⁻¹ 干土, 对土壤呼吸总的促进程度达到 22.9%.

比较 2 种磺胺类抗生素对土壤呼吸影响结果, 磺胺甲 唑对土壤呼吸前期(0~ 4 d)的抑制作用强于磺胺甲噁啉. 而且在培养中期, > 10 mg•kg⁻¹ 浓度处理对土壤呼吸促进作用也显著强于磺胺甲噁啉.

表 2 磺胺甲 唑对 CO₂ 释放量的影响/mg•(100 g)⁻¹
Table 2 Effect of sulfamethoxazole on CO₂ emission/mg•(100 g)⁻¹

处理浓度 /mg•kg ⁻¹	处理时间/d						
	0~ 2	2~ 4	4~ 6	6~ 8	8~ 12	12~ 16	16~ 21
CK	113.5 a	165.2 a	122.1 c	37.9 c	48.3 b	57.5 b	63.8 a
1	118.1 a	160.9 a	121.6 c	29.1 c	38.1 b	47.3 c	58.6 ab
10	99.7 b	157.3 a	154.1 a	67.8 b	36.2 b	42.0 d	48.7 c
40	89.8 c	136.3 b	159.4 a	133.8 a	51.7 b	44.4 cd	47.4 c
70	87.7 cd	113.2 c	143.7 ab	151.6 a	122.0 a	58.2 b	45.9 c
100	82.3 d	108.3 c	130.5 bc	150.6 a	140.1 a	78.4 a	57.5 b

2.2 四环类抗生素对土壤呼吸的影响

2.2.1 氯四环素对土壤呼吸影响

氯四环素对土壤呼吸的影响结果见表 3. 添加药物前 2 d, 只有 100、300 mg•kg⁻¹ 这 2 个高浓度的氯四环素处理对土壤的二氧化碳释放量起显著的抑制作用, 其它各处理之间差异很小. 随着培养时间增长, 在 2~ 6 d 内, 添加氯四环素的处理土壤呼吸作用得到恢复, 各处理之间的土壤呼吸强度相近. 6~ 9 d, 10 mg•kg⁻¹ 以上的各处理都对土壤微生物呼吸起到了一定促进作用, 70 mg•kg⁻¹ 以上浓度处理对土壤呼吸作用的促进作用达到统计上的显著水平, 他们的二氧化碳释放量绝对值与对照有较大的差异. 9~ 21 d, 有部分处理的土壤二氧化碳释放量之

间存在统计上的显著差异, 但他们之间的二氧化碳释放量绝对值差异小. 总体而言, 氯四环素对土壤呼吸作用影响不大, 主要表现出前 2 d 高浓度氯四环素抑制土壤呼吸. 0~ 21 d, 300 mg•kg⁻¹ 与对照处理土壤二氧化碳释放总量分别为 640.2、646.5 mg•(100 g)⁻¹, 总体差异不到 1%.

2.2.2 四环素对土壤呼吸影响

四环素对土壤呼吸的影响见表 4, 四环素对土壤呼吸的影响在 0~ 4 d 在统计上没有规律, 各处理之间的土壤二氧化碳释放量的绝对值差异很小. 在 4~ 6 d, 100、300 mg•kg⁻¹ 这 2 个高浓度处理对土壤呼吸作用起显著的促进作用. 6~ 17 d 各添加四环素的处理土壤的呼吸作用与对照比都有所增强, 其

表 3 氯四环素对 CO₂ 释放量的影响 mg•(100 g)⁻¹
Table 3 Effect of chlortetracycline on CO₂ emission/mg•(100 g)⁻¹

处理浓度 /mg•kg ⁻¹	处理时间/d						
	0~ 2	2~ 4	4~ 6	6~ 9	9~ 12	12~ 16	16~ 21
CK	122.3 ab	159.2 a	129.7 a	78.9 ab	53.0 a	50.7 ab	46.4 ab
1	123.0 a	160.8 a	130.4 a	77.0 b	51.3 a	50.0 ab	46.2 ab
10	120.8 ab	161.4 a	128.4 a	83.9 ab	54.9 a	52.0 a	47.2 a
40	121.4 ab	161.0 a	123.9 a	83.7 ab	53.7 a	50.9 ab	45.8 b
70	121.5 ab	157.8 a	126.4 a	85.9 a	55.1 a	51.3 ab	45.5 b
100	120.1 b	158.6 a	130.4 a	86.7 a	53.7 a	51.2 ab	46.3 ab
300	120.2 b	158.9 a	131.8 a	85.8 a	55.2 a	49.5 b	45.1 b

中连续 3 次(6~ 9、9~ 13、13~ 17 d)都以 300 mg•kg⁻¹处理土壤的二氧化碳释放量最大,可见试验中高浓度的四环素对土壤中的 CO₂ 释放量有明显的刺激作用.总体来看四环素对土壤呼吸的影响主要表现在培养中期的一定程度的促进作用,而前期和后期对土壤呼吸的影响不明显.0~ 21 d 内 300

mg•kg⁻¹处理与对照土壤释放总二氧化碳量分别为 558.5、526.6 mg•(100 g)⁻¹,总的促进率为 6%.

以上 2 种四环类抗生素对土壤呼吸的影响不大,在整个培养过程中,氯四环素的最高浓度 300 mg•kg⁻¹处理对土壤呼吸也没有什么影响,而四环素的 300 mg•kg⁻¹处理对土壤呼吸表现出明显地促进作用.

表 4 四环素对 CO₂ 释放量的影响 mg•(100 g)⁻¹
Table 4 Effect of tetracycline on CO₂ emission/mg•(100 g)⁻¹

处理浓度 /mg•kg ⁻¹	处理时间/d						
	0~ 2	2~ 4	4~ 6	6~ 9	9~ 13	13~ 17	17~ 22
CK	101.5 ab	134.9 ab	99.4 b	58.0 c	52.7 c	40.6 b	39.5 ab
1	99.9 b	136.0 a	98.8 b	64.7 b	55.4 b	41.1 b	38.6 b
10	100.1 b	133.4 ab	96.4 b	60.6 bc	54.2 bc	41.1 b	38.6 b
40	99.7 b	133.2 ab	97.9 b	62.5 bc	55.3 b	40.7 b	38.6 b
70	100.9 b	133.9 ab	98.8 b	63.9 b	55.3 b	40.9 b	38.3 b
100	101.1 b	130.8 b	106.4 a	65.2 b	55.3 b	41.6 b	39.3 ab
300	103.2 a	132.6 ab	107.7 a	73.8 a	58.3 a	42.8 a	40.1 a

2.3 大环类酯抗生素对土壤呼吸的影响

在表 5 中,0~ 4 d 内泰乐菌素 70 mg•kg⁻¹以上的浓度显著抑制土壤呼吸作用,而低于 70 mg•kg⁻¹各处理与对照土壤呼吸相比没有差异,说明在早期只有高浓度泰乐菌素才抑制土壤呼吸.而在 4~ 12 d 则相反,即从添加药物的第 4 d 开始,加入较高浓度的泰乐菌素(≥70 mg•kg⁻¹)的土壤微生物呼吸没有受到抑制,反而显著增加,说明土壤呼吸得到恢复,土壤微生物活性受到激活.12~ 16 d,各处理之间的土壤呼吸没有显著差异,并且各土壤二氧化碳的释放量也非常接近.16~ 21 d,添加 10 mg•kg⁻¹以上的泰乐菌素处理明显地表现出抑制土壤呼吸作用.总体来看,试验的中低浓度(1、10、40 mg•kg⁻¹)泰乐菌素对土壤呼吸作用没有影响,70 mg•kg⁻¹以上的浓度则显著的影响土壤呼吸.泰乐菌素对土壤呼吸的影响主要表现高浓度处理在前期对土壤呼吸的抑制,中期对土壤呼吸明显地促进,到后期又抑制土壤呼吸作用.0~ 21 d,300 mg•kg⁻¹处理与对照土壤释

放总二氧化碳量分别为 640.2、673.6 mg•(100 g)⁻¹,总的刺激率为 5.2%,可见泰乐菌素整体上对土壤微生物呼吸影响不大.

2.4 甲氧苄啶对土壤呼吸的影响

由表 6 可见,0~ 2 d 土壤呼吸对甲氧苄啶反应敏感,添加甲氧苄啶处理的土壤二氧化碳的释放量都低于对照处理,10 mg•kg⁻¹以上的处理则显著抑制土壤的呼吸作用.甲氧苄啶对土壤呼吸的抑制作用在 2~ 4d 表现明显,较高浓度即 40 mg•kg⁻¹以上的处理对土壤呼吸产生显著的抑制效果,二氧化碳的释放量与对照比较相差很大.在 4~ 6d,除 300 mg•kg⁻¹处理对土壤呼吸有显著抑制作用外,其它添加甲氧苄啶各处理(除 1 mg•kg⁻¹外)都对土壤呼吸有明显的促进作用,40 mg•kg⁻¹处理土壤二氧化碳释放量最多,表明中间浓度处理土壤呼吸恢复和激活的最快.6~ 22 d,各处理随着甲氧苄啶的浓度增加,土壤二氧化碳释放量也相应增加,表现出对土壤呼吸刺激作用与甲氧苄啶的浓度成正比关系.在 6

表 5 泰乐菌素对 CO₂ 释放量的影响 mg•(100 g)⁻¹
Table 5 Effect of tylosin on CO₂ emission/mg•(100 g)⁻¹

处理浓度 /mg•kg ⁻¹	处理时间/d						
	0~ 2	2~ 4	4~ 6	6~ 9	9~ 12	12~ 16	16~ 21
CK	122.3 a	159.2 a	129.7 bc	78.9 d	53.0 d	50.7 a	46.4 ab
1	122.1 ab	159.3 a	122.5 c	78.3 d	55.0 cd	50.9 a	47.1 a
10	121.7 abc	161.3 a	119.3 c	79.5 d	52.8 d	50.6 a	45.5 bc
40	121.8 abc	161.0 a	122.6 c	93.7 c	56.7 cd	50.1 a	43.9 de
70	120.5 c	147.9 c	144.9 a	108.6 a	68.2 a	50.0 a	43.5 de
100	120.9 bc	153.2 b	134.5 ab	98.4 bc	58.6 c	50.6 a	43.1 e
300	120.7 bc	152.4 b	138.4 ab	102.0 b	63.4 b	51.8 a	44.8 cd

表 6 甲氧苄啶对 CO₂ 释放量的影响 mg•(100 g)⁻¹
Table 6 Effect of trimethoprim on CO₂ emission/mg•(100 g)⁻¹

处理浓度 /mg•kg ⁻¹	处理时间/d						
	0~ 2	2~ 4	4~ 6	6~ 9	9~ 13	13~ 17	17~ 22
CK	103.3 a	133.6 b	96.0 bc	54.9 f	53.2 g	42.1 c	41.7 c
1	102.2 a	137.8 a	90.8 cd	53.0 f	55.6 f	43.2 c	42.1 c
10	99.2 b	136.0 a	98.8 b	60.7 e	62.2 e	44.9 bc	42.8 c
40	97.3 bc	126.0 c	119.5 a	80.7 d	65.3 d	48.9 bc	45.4 b
70	96.1 c	103.9 d	117.8 a	90.0 c	72.4 c	48.3 bc	43.1 c
100	96.9 bc	90.9 e	114.0 a	104.7 b	86.4 b	51.4 b	46.2 b
300	96.8 bc	82.7 f	84.8 d	126.7 a	124.0 a	60.6 a	49.5 a

~ 22 d 内, 300 mg•kg⁻¹处理土壤二氧化碳的总释放量为 360.1 mg•(100 g)⁻¹, 土壤微生物二氧化碳的释放量与对照比较, 增加了 87.6%。而在 0~ 22 d 内, 300 mg•kg⁻¹处理与对照处理总二氧化碳释放量分别为 524.9、625.0 mg•(100 g)⁻¹, 总刺激率也达到 19.0%。总体来看, 在本试验浓度范围内, 甲氧苄啶对土壤呼吸的影响主要体现为刺激作用, 且中、后期的刺激作用与浓度成正比关系, 表现出明显地剂量依赖效应。

以上 6 种抗生素对土壤呼吸的影响存在很大差异, 主要因为不同的药物化学结构和作用机制不同^[24]。除了四环类抗生素对土壤呼吸影响不大外, 其它 4 种药物在整个试验培养过程中都维持有作用活性, 即对土壤呼吸存在明显影响。土壤施药初期, 各剂量处理对土壤呼吸作用均表现出一定的抑制效果, 且浓度愈高对土壤呼吸作用的抑制愈强。原因可能是施药后土壤中所含的抗生素的量超过了影响土壤呼吸作用的浓度阈值, 并且可能杀死了某些微生物, 因此呈现出抑制效应^[25]。药物对土壤微生物的呼吸有抑制作用, 但这种影响表现出非持续性, 原因可能是随着培养时间的增加, 药物在影响微生物活动的同时, 能被微生物分解, 其含量不断减少, 能降解到低于药物对土壤呼吸影响的浓度阈值, 因此呼吸作用也较快恢复, 且土壤微生物的耐受性增加, 土

壤中产生抗性种群, 使土壤的呼吸逐渐恢复正常^[24, 25]。而药物对土壤呼吸的促进作用其可能的原因是药物施入土壤后, 作为微生物生长的 C、N 源, 形成新的微生物优势种群^[26, 27]。药物的作用目标是针对一定的“靶微生物”, 而不是对土壤中所有的微生物, 如果土壤中的“靶微生物”少, 而其他非靶微生物对药物又具有一定的耐受性, 就可能出现土壤中的 CO₂ 的释放量增加的现象^[24]。

但抗生素对土壤呼吸影响应该结合土壤中微生物种类、数量的变化以及药物加入土壤后的降解程度、降解产物的分析才能得到更好地解释。

2.5 抗生素对土壤呼吸作用影响评价

试验中抗生素类药物对土壤微生物呼吸的影响评价参考农药的安全性评价标准。利用田间用量等级划分法来评价药物的毒性。≤1 mg•kg⁻¹, 对土壤呼吸的抑制强度达 50% 的药物定为高毒级; 1~ 10 mg•kg⁻¹, 为中毒级; > 10 mg•kg⁻¹, 抑制强度为 50% 的药物定为低毒级^[28]。

通过计算, 磺胺甲噁啉、磺胺甲 唑对土壤呼吸的最大抑制率分别为 34.33%、34.43%。氯四环素、四环素的最大抑制率分别为 2.71%、3.08%。泰乐菌素、甲氧苄啶最大抑制率分别为 7.13%、38.08%。6 种抗生素对土壤呼吸都有抑制作用, 但抑制强度均未达到 50%。因此, 根据上述毒性等级

划分标准, 在实验浓度范围内, 抗生素对土壤微生物属于低毒或无实际危害。但 2 个磺胺药以及甲氧苄啶在较高浓度 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 左右) 时对土壤呼吸的抑制达到 30%~40%, 反映出抗生素对土壤呼吸有较大影响。

3 结论

2 种磺胺类抗生素对土壤呼吸的影响相似, 先是抑制、中间促进、后期再抑制, 磺胺甲 唑对土壤呼吸影响更强。2 种四环类抗生素对土壤呼吸作用影响不大。泰乐菌素在培养中期对土壤呼吸起到促进作用, 前后期影响不大。甲氧苄啶对土壤呼吸有较大的影响, 对土壤呼吸影响表现出明显的剂量依赖效应。在 0~4 d, 随甲氧苄啶浓度增加对土壤呼吸的抑制逐渐增强, 在 6~22 d, 对土壤呼吸的促进作用也随浓度增加而增强。抗生素对土壤呼吸影响评价结果表明试验中各抗生素属于低毒或无实际危害的药物。

参考文献:

- [1] Daz-Cruz M S, Lopez de Alda M J, Damia B. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2003, **22** (6): 340-351.
- [2] Boxall A B A, Kolpin D W, Halling-Sørensen B, *et al.* Are veterinary medicines causing environmental risks? [J]. Environ Sci Tec, 2003, **37**(15): 286A-294A.
- [3] Jørgensen S E, Halling-Sørensen B. Drugs in the environment[J]. Chemosphere, 2000, **40**(7): 691-699.
- [4] Baguer A J, Jensen J, Knøgh P H. Effects of the antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna[J]. Chemosphere, 2000, **40** (7): 751-757.
- [5] 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): 357-393.
- [6] Hirsch R, Temes T, Haberer K, *et al.* Occurrence of antibiotics in the aquatic environment [J]. Science of the Total Environment, 1999, **225**(1-2): 109-118.
- [7] Zuccato E, Bagnati R, Fioretti F, *et al.* Environmental loads and detection of pharmaceuticals in Italy[A]. In: Kummerer K, (ed.). Pharmaceuticals in the Environment—Sources, Fate, Effects and Risks [R]. Springer-verlag, Berlin, Germany, 2001. 19-27.
- [8] Ashton D, Hilton M, Thomas K V. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom [J]. Science of the Total Environment, 2004, **333**(1-3): 167-184.
- [9] Samah 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 in the environment[J]. Chemosphere, 2006, **65** (5): 725-759.
- [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** (6-7): 957-969.
- [11] Thiele-Bruhn S, Beck I C. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass [J]. Chemosphere, 2005, **59**(4): 457-465.
- [12] 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]. 生态学报, 2005, **14**(6): 947-952.
- [13] Daz-Cruz M S, Lopez de Alda M J, Damia B. Determination of antimicrobials in sludge from infiltration basins at two artificial recharge plants by pressurized liquid extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2006, **1130**(1): 72-82.
- [14] Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment[J]. Ecological Indicators, 2008, **8**(1): 1-13.
- [15] Erickson B E. Analyzing the ignored environment contaminants[J]. Environ Sci Tec, 2002, **36**(7): 140A-145A.
- [16] Metcalfe C D, Miao X S, Koenig B G, *et al.* Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower Great Lakes, Canada[J]. Environ Toxicol Chem, 2003, **22** (12): 2881-2889.
- [17] Batt A L, Bruce I B, Aga D S. Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges[J]. Environmental pollution, 2006, **142** (2): 299-302.
- [18] Yao H, He Z, Wilson M J, *et al.* Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use[J]. Microbial Ecology, 2000, **40**(3): 223-237.
- [19] Winding A, Hunsø Rink K, Rutgers M. The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts[J]. Ecotox Environ Saf, 2005, **62**(2): 230-248.
- [20] Pal R, Chakrabarti K, Chakraborty A, *et al.* Pencycuron application to soils: degradation and effect on microbiological parameters[J]. Chemosphere, 2005, **60**(11): 1513-1522.
- [21] 刘惠君, 郑巍, 刘维屏. 新农药吡虫啉及其代谢产物对土壤呼吸的影响[J]. 环境科学, 2001, **22**(4): 73-76.
- [22] 吴春先, 吕潇, 慕立义, 等. 灭线磷对土壤微生物呼吸的影响[J]. 农药科学与管理, 2002, **23**(4): 23-25.
- [23] 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.
- [24] 刁习平, 孙英健, 孙振钧, 沈建忠. 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.
- [25] 徐珍, 郭正元, 黄帆, 等. 唑螨酯对土壤呼吸作用和过氧化氢酶活性的影响[J]. 农药, 2006, **45**(10): 692-694.
- [26] 郑丽英, 张益良, 杨仁斌, 等. 双草醚对土壤呼吸作用及土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, **26**(3): 1117-1120.
- [27] Yao X H, Min H, L Z H, *et al.* Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration [J]. European Journal of Soil Biology, 2006, **42**(2): 120-126.
- [28] 国家环境保护局. 化学农药环境安全评价实验准则(续)[J]. 农药科学与管理, 1990, **11**(4): 4-9.