

磺胺类兽药对土壤生化功能及氮素的影响^①

国 彬，姚丽贤*，刘忠珍，何兆桓，周昌敏，李国良，杨苞梅，黄连喜

(广东省农业科学院土壤肥料研究所，广东省养分资源循环与耕地保育重点实验室，广州 510640)

摘 要：研究了磺胺类药物对土壤呼吸作用、硝化作用、氨化作用、铵态氮、硝态氮、亚硝态氮及全氮的影响。结果表明，相对较低浓度药物残留(10 mg/kg 土)对土壤呼吸作用的影响呈现“激活-抑制”循环的规律，而相对较高浓度药物残留(50 mg/kg 土)对土壤呼吸作用的影响则呈现“抑制-激活-抑制”的规律，因此，磺胺类药物残留会抑制土壤呼吸作用。相对较低浓度药物残留(10 mg/kg 土)对土壤硝化作用、氨化作用呈现“激活-恢复”的规律，而相对较高浓度药物残留(50 mg/kg 土)对土壤硝化作用、氨化作用则一直呈现“激活”的状态，因此，磺胺类药物残留会刺激土壤的硝化作用与氨化作用。土壤氮素是生物圈内氮循环的重要指标，磺胺类药物残留对土壤氮素有一定的抑制作用，若长期保持着较高残留水平，则会破坏土壤的氮循环。

关键词：磺胺类药物；土壤呼吸作用；土壤硝化作用；土壤氨化作用；土壤氮素

中图分类号：X508

目前兽用抗生素不仅作为兽药，也作为促进生长和预防疾病的饲料添加剂在畜禽养殖业中得到广泛使用^[1]。养殖场大量使用抗生素，其中大部分以药物原形随粪尿排出，不断进入环境，含有抗生素残留的动物粪尿作为有机肥施入农田造成土壤污染，并对土壤生态系统产生不良影响^[2]。土壤生态系统中的各种微生物数量、呼吸作用强度及酶活性对土壤中的碳、氮、磷等物质和能量的循环起着十分重要的作用^[3]。土壤环境微生物的呼吸作用强度及酶活性是评价外来物质对土壤的污染程度和生态环境安全性的重要指标^[4-5]。

化学物质与土壤微生物的关系已成为环境科学的重要领域。农药与土壤微生物的关系国内外研究较多^[6-7]，但有关兽药与环境中微生物的相互作用研究的报道很少^[3,5,8-15]。

磺胺类(sulfonamides, SAs) 抗生素是具有对氨基苯磺酰胺结构的一类药物的总称，长期以来被用于动物疾病的治疗和预防，通常作为动物饲料添加剂以亚治疗剂量添加到动物饲料中。SAs 可影响核蛋白的合成，从而抑制细菌的生长与繁殖。SAs 不会被动物体完全吸收，约有 50%~90% 的药物以药物原形或代谢物形式随动物粪便、尿液排出^[16-21]，因而依然具有生物活性，当排入环境中后，它们会对土壤生态系统产生影响。本文选取磺胺二甲基嘧啶和磺胺甲噁唑为供

试药物，通过研究这 2 种药物对土壤生化功能及氮素的影响，了解其对土壤生态系统的生态毒理效应，以便为磺胺类抗生素的环境安全性评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤采自广东省农业科学院试验田菜园土壤 0~20 cm 耕作层，未受抗生素污染，属于清洁土壤，其理化性质为：体积质量为 1.43 g/cm³、有机质含量为 14.6 g/kg、阳离子交换量(CEC)为 6.22 cmol/kg、pH 值为 6.01、有效磷为 42.37 mg/kg、速效钾 65.4 mg/kg、土壤质地为砂质黏壤土。试验前，将土壤风干，磨碎并混合均匀，过 2 mm 筛后备用。

1.2 供试试剂

供试药物磺胺二甲基嘧啶(SM2)为佛山市南海北沙制药有限公司提供，磺胺甲噁唑(SMZ)为寿光富康制药有限公司提供，含量均≥99%，2 种磺胺药物的标准样品、甲醇和乙腈为 Sigma 公司提供，其他试剂则均为分析纯，由广州试剂厂提供。

1.3 试验方法

分别称取 SM2、SMZ 兽药各 6.00 mg 和 30.00 mg，用丙酮溶解，于 25 ml 棕色容量瓶中定容，配制质量浓度分别为 240、1 200 mg/L 的 SM2 与 SMZ

①基金项目：广东省农科院科技支撑项目(07-支撑-32)、广东省农科院院长基金项目(20090106)、公益性行业(农业)科研专项(3-26)资助。

* 通讯作者(lyao1x@yahoo.com.cn)

作者简介：国彬(1984—)，男，山东泰安人，硕士，研究实习员，主要从事生态与土壤环境研究。E-mail: alexander-laogui@163.com

的混合储备溶液, 4℃ 冰箱保存待用。

称取每份土壤样品 600 g, 装入 500 ml 塑料烧杯中。将样品分成 3 组, 编号为 CK、T1、T2。其中, CK (空白对照组, 未添加磺胺类药物), T1 (土壤中 2 种磺胺类药物含量均为 10 mg/kg)、T2 (土壤中 2 种磺胺类药物含量均为 50 mg/kg)。为避免丙酮对土壤微生物活性产生影响, 将烧杯置于通风橱中, 用玻璃棒搅拌至丙酮完全蒸发^[21]。加入去离子水, 使样品含水量达到田间饱和持水量的 60%。用 parafilm 封口膜将烧杯口盖住, 留 6 ~ 8 个直径为 1 mm 的小洞在封口膜上, 使烧杯内气体和外界流通以保持微生物活性。将烧杯置于 25℃ 恒温培养箱中进行避光培养 49 天, 每周对样品进行称重, 补充水分, 使其含水量保持稳定。于第 0、0.5、1、2、4、8、12、25、49 天测定土壤中 SM2、SMZ 的含量, 每处理重复 3 次。

土壤生化功能、土壤微生物数量的测定参见许光辉等^[22]方法。土壤呼吸作用强度测定采用碱吸收滴定法、土壤氨化作用强度测定采用土壤培养-奈氏试剂比色法、土壤硝化作用强度测定采用土壤培养-酚二磺酸比色法。

土壤总氮、硝态氮、亚硝态氮和铵态氮含量的测定采用连续流动分析仪。

2 结果与讨论

2.1 磺胺类药物对土壤呼吸作用的影响

磺胺类药物对土壤呼吸作用的影响见图 1。可以看出, 与 CK 相比, 在培养试验初始期 (0 天), T1 处理的 CO₂ 释放量受到激活, 其激活率为 34.8%; T2 处理的 CO₂ 释放量则受到了抑制, 其抑制率为 19.6%。当第 0.5 天时, T1 与 T2 处理的 CO₂ 释放量均受到抑制, 其抑制率分别为 48.6%、14.3%。在第 1~8 天内, T1 与 T2 处理的 CO₂ 释放量均受到激活。在第 25~49 天 (培养试验结束) 内, T1 与 T2 处理的 CO₂ 释放量则均受到抑制; 当培养试验结束时, T1 与 T2 处理的呼吸作用抑制率分别为 49.2%、42.6%。在培养试验期间, T1 处理对土壤呼吸作用的影响呈现“激活-抑制”循环的规律; 而 T2 处理对土壤呼吸作用的影响则呈现“抑制-激活-抑制”的规律。因此, 磺胺类药物残留会对土壤呼吸作用产生危害。

2.2 磺胺类药物对土壤硝化作用、氨化作用的影响

磺胺类药物对土壤硝化作用的影响见图 2, 对土壤氨化作用的影响见图 3。可以看出, 在培养试验期间, 与 CK 相比, T1 与 T2 处理的土壤硝化作用、氨化作用均受到激活, 并且 T2 处理的土壤硝化作用与氨

化作用强度要高于 T1 处理。其中 T1 处理的土壤硝化作用、氨化作用呈现“激活-恢复”的规律, 而 T2 处理的土壤硝化作用、氨化作用则一直呈现“激活”的规律。

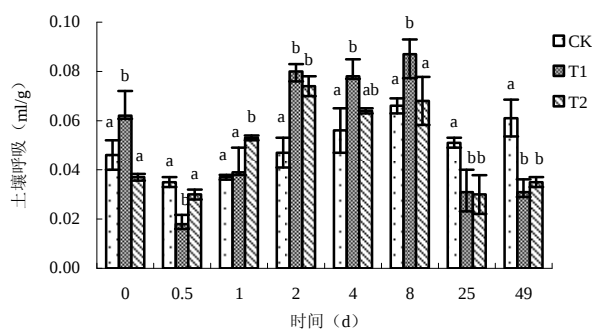


图1 磺胺类药物对土壤呼吸作用的影响

Fig. 1 Effects of sulfonamides on soil respiration

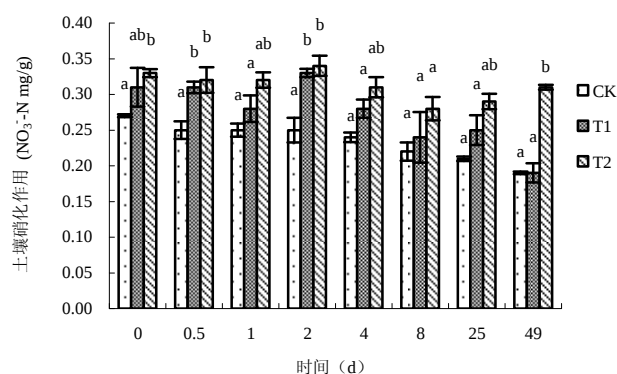


图2 磺胺类药物对土壤硝化作用的影响

Fig. 2 Effects of sulfonamides on soil nitrification

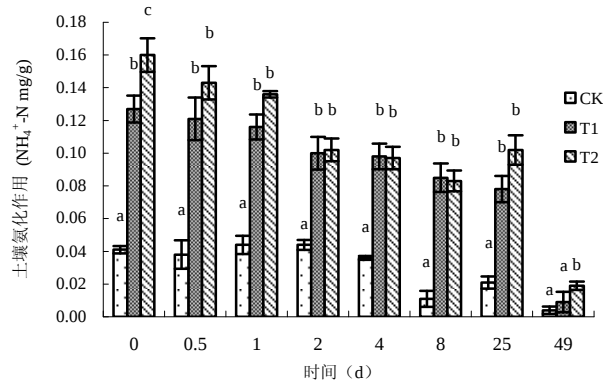


图3 磺胺类药物对土壤氨化作用的影响

Fig. 3 Effects of sulfonamides on soil ammonification

2.3 磺胺类药物对土壤铵态氮的影响

磺胺类药物对土壤铵态氮的影响见图 4。可以看出, 与 CK 相比, 在培养试验初始期 (0 天), T1 与 T2 处理的土壤铵态氮均受到激活, 其激活率分别为 29.8%、5.6%。在第 0.5~1 天内, T1 处理的土壤铵态氮继续受到激活, 而 T2 处理的土壤铵态氮则受到抑制。在第 2~25 天内, T1 与 T2 处理的土壤铵态氮均受到抑制。在第 25~49 天 (培养试验结束) 内, T1 与 T2 处理的土壤铵态氮均受到激活。当培养试验结束时, T1 与 T2 处理的土壤铵态氮激活率分别为 176%、271%。在培养试验期间, 磺胺类药物对土壤铵态氮的影响呈现“激活-抑制-激活”的规律。

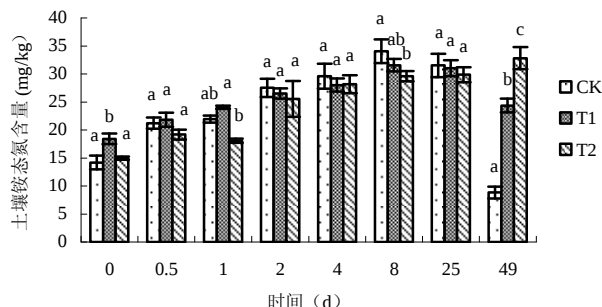


图 4 磺胺类药物对土壤铵态氮的影响

Fig. 4 Effects of sulfonamides on soil $\text{NH}_4^+\text{-N}$

2.4 磺胺类药物对土壤硝态氮的影响

磺胺类药物对土壤硝态氮的影响见图 5。可以看出, 与 CK 相比, 在第 0~2 天内, T1 处理的土壤硝态氮均受到抑制, T2 处理的土壤硝态氮则呈现“激活-抑制”的循环现象。在第 4~49 天 (培养试验结束), T1 与 T2 处理的土壤硝态氮均受到激活。当培养试验结束时, T1 与 T2 处理的土壤硝态氮激活率分别为 372.7%、24.2%。磺胺类药物对土壤硝态氮有一定的抑制作用。

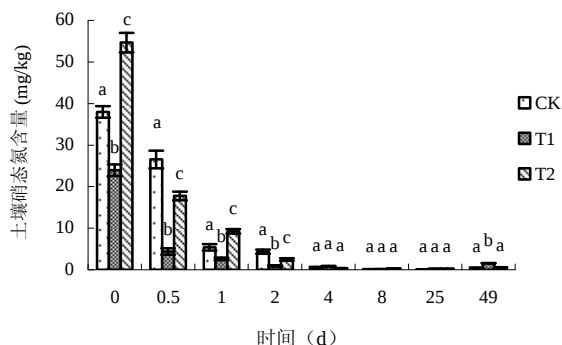


图 5 磺胺类药物对土壤硝态氮的影响

Fig. 5 Effects of sulfonamides on soil $\text{NO}_3^-\text{-N}$

2.5 磺胺类药物对土壤亚硝态氮的影响

磺胺类药物对土壤亚硝态氮的影响见图 6。可以看出, 与 CK 相比, 在培养试验初始期 (0 天), T1 与 T2 处理的土壤亚硝态氮均受到抑制, 抑制率分别为 46.0%、98.3%。当第 0.5 天时, T1 处理的土壤亚硝态氮继续受到抑制, 而 T2 处理则相反。在第 1~4 天内, T1 与 T2 处理的土壤亚硝态氮均受到激活。在第 8~25 天内, T1 与 T2 处理的土壤亚硝态氮均受到抑制。在第 25~49 天 (培养试验结束) 内, T1 与 T2 处理的亚硝态氮均受到激活。当培养试验结束时, T1 与 T2 处理的土壤亚硝态氮激活率分别为 259.8%、26.4%。在培养试验期间, 磺胺类药物对土壤亚硝态氮的影响呈现“抑制-激活”循环的规律。

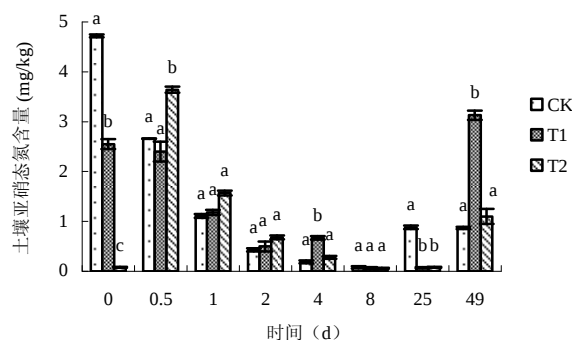


图 6 磺胺类药物对土壤亚硝态氮的影响

Fig. 6 Effects of sulfonamides on soil $\text{NO}_2^-\text{-N}$

2.6 磺胺类药物对土壤全氮的影响

磺胺类药物对土壤全氮的影响见图 7。可以看出, 与 CK 相比, T1 处理的土壤全氮在第 0~25 天内受到抑制, 当第 25 天至试验结束, 则恢复至 CK 水平, 培养试验期间, 整体呈现“抑制-恢复”的规律; 而 T2 处理的土壤全氮在培养试验期间一直呈现“激活”的状态。

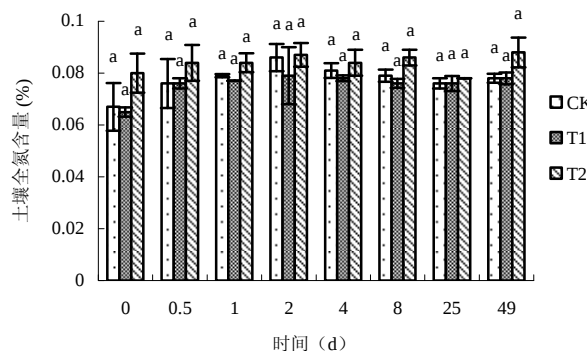


图 7 磺胺类药物对土壤全氮的影响

Fig. 7 Effects of sulfonamides on soil total-N

3 结论

(1) 土壤呼吸作用可以看作衡量土壤微生物总的活性指标。相对较低浓度药物残留(10 mg/kg 土)对土壤呼吸作用的影响呈现“激活-抑制”循环的规律,而相对较高浓度药物残留(50 mg/kg 土)对土壤呼吸作用的影响则呈现“抑制-激活-抑制”的规律。这说明磺胺类药物残留会抑制土壤微生物群体的生命活动,降低土壤呼吸作用,进而会影响土壤中有有机质的分解与再循环,降低土壤肥力。

(2) 土壤硝化作用与氨化作用一样,都是生物圈内氮循环的重要环节,土壤氨化作用强度在一定程度上反映了土壤的供氮能力。相对较低浓度药物残留(10 mg/kg 土)对土壤硝化作用、氨化作用呈现“激活-恢复”的规律,而相对较高浓度药物残留(50 mg/kg 土)对土壤硝化作用、氨化作用则一直呈现“激活”的规律;并且相对较高浓度药物残留对土壤硝化作用与氨化作用的影响要高于相对较低浓度药物残留的。这可能是因为磺胺类药物残留会刺激硝化细菌与氨化细菌的生长,使其菌落群体活性增强,从而刺激土壤的硝化作用与氨化作用。

(3) 土壤氮素是生物圈内氮循环的重要指标。在培养试验期间,磺胺类药物对土壤铵态氮的影响呈现“激活-抑制-激活”的规律;对土壤亚硝态氮的影响呈现“抑制-激活”循环的规律。相对较低浓度药物残留(10 mg/kg 土)对土壤硝态氮的影响呈现“抑制-激活”的规律,对土壤全氮的影响呈现“抑制-恢复”的规律;而相对较高浓度药物残留(50 mg/kg 土)对土壤硝态氮的影响则呈现“激活-抑制-激活”的规律,对土壤全氮的影响则一直呈现“激活”的状态。因此,土壤中磺胺类药物残留若长期保持着较高水平,则会破坏土壤的氮循环。

参考文献:

- [1] Nicole K. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators*, 2008, 8(1): 1-13
- [2] 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学效应研究进展. *生态毒理学报*, 2007, 2(1): 1-9
- [3] 金彩霞, 刘建军, 陈秋颖, 樊静, 周庆祥, 潘峰. 兽药磺胺间甲氧嘧啶对土壤呼吸及酶活性的影响. *农业环境科学学报*, 2010, 29(2): 314-318
- [4] Wardle DA, Parkinson D. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and Soil*, 1990, 122: 21-28
- [5] 刁晓平, 孙英健, 孙振钧, 沈建忠. 3种兽药对土壤微生物呼吸的影响. *中国农业大学学报*, 2006, 11(2): 39-43
- [6] 王静, 乔雄梧, 朱九生, 秦曙, 郝变青. 四种农药对土壤微生物的影响 I: 土壤呼吸的变化. *应用与环境生物学报*, 1999, 5(2): 155-157
- [7] 刘惠君, 郑巍, 刘维屏. 农药 Imidacloprid 和它的代谢产物对土壤呼吸的影响. *环境科学*, 2001, 22(4): 73-76
- [8] Ingham ER, Coleman DC, Parmelee R. Reduction of microbial and faunal groups following application of streptomycin and captan in Georgia no-tillage agroecosystem. *Pedobiologia*, 1991, 35: 297-304
- [9] 姚建华, 牛德奎, 李兆君, 梁永超, 张树清. 抗生素土霉素对小麦根际土壤酶活性和微生物生物量的影响. *中国农业科学*, 2010, 43(4): 721-728
- [10] 刁晓平, 孙英健, 孙振钧, 沈建忠. 安普霉素对不同土壤中微生物活动的影响. *生态环境*, 2004, 13(4): 565-568
- [11] 汪勇. 粪肥农用对土壤中病原菌及四环素抗性细菌的影响(硕士学位论文). 南京: 南京师范大学, 2008
- [12] 刘吉强. 两种外源抗生素对菜田土壤微生物特性及酶活性的影响(硕士学位论文). 泰安: 山东农业大学, 2009
- [13] 朱孔方. 抗生素暴露对土壤微生物和土壤酶活性的影响(硕士学位论文). 新乡: 河南师范大学, 2009
- [14] 王丽平. 典型外源抗生素在土壤中的转归及其与土壤微生物多样性的相互作用和机理研究(硕士学位论文). 杭州: 浙江大学, 2008
- [15] 魏松林. 抗生素污染土壤细菌生态学及其耐药性研究(硕士学位论文). 扬州: 扬州大学, 2008
- [16] Haller MY, Muller RS, Mcardell CS, Alder AC, Suter MJF. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr A*, 2002, 952: 111-120
- [17] Blackwell PA, Lützhøft HCH, Ma HP. Ultrasonic extraction of veterinary antibiotics from soils and pig slurry with SPE clean-up and LC-UV and fluorescence detection. *Talanta*, 2004, 64: 1058-1064
- [18] Elena MC, Carmen GB, Scharf S, Oliver G. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environmental Pollution*, 2007: 1-10
- [19] Hu XG, Yi L, Zhou QX, Xu L. Determination of thirteen antibiotics residues in manure by solid phase extraction and high performance liquid chromatography. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2008, 36(9): 1162-1166
- [20] Zhao L, Dong YH, Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. *Science of the Total Environment*, 2010, 408: 1069-1075
- [21] 陈昇, 董元华, 王辉, 安琼, 张劲, 刘新程. 江苏省畜禽粪便中

- 磺胺类药物残留特征. 农业环境科学学报, 2008, 27(1): 385-389
- [22] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册. 北京: 农业出版社, 1986
- [23] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986

Effects of Sulfonamide Veterinary Drugs on Soil Biochemical Function and Nitrogen

GUO Bin, YAO Li-xian, LIU Zhong-zhen, HE Zhao-huan, ZHOU Chang-min, LI Guo-liang, YANG Bao-mei, HUANG Lian-xi
(Key Laboratory of Nutrient Cycling and Farmland Conservation, Soil and Fertilizer Institute,
Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The effects of sulfonamides on soil respiration, nitrification, ammonification, ammonium, nitrate, nitrite nitrogen and total nitrogen were studied. The results showed that lower concentration of drug residue (10 mg/kg soil) on soil respiration showed the law of ‘activation – inhibition’, the higher concentration of drug residue (50 mg/kg soil) on soil respiration showed the law of ‘restraint - activation - inhibition’, which proved that sulfonamides could inhibit soil respiration. Lower concentration of drug residue (10 mg/kg soil) on soil nitrification and ammonification showed the law of ‘activation – inhibition’, higher concentration of drug residue (50 mg/kg soil) on soil nitrification and ammonification showed the state of ‘activation’, which proved that sulfonamides could stimulate soil nitrification and ammonification. Nitrogen is an important indicator of biosphere nitrogen cycle, sulfonamides drug residue on soil nitrogen had some inhibitory effect, and a high residue level of long-term will destroy soil nitrogen cycle.

Key words: Sulfonamides, Soil respiration, Soil nitrification, Soil ammonification, Soil nitrogen