

磺胺类兽药对土壤微生物数量的影响*

国彬 姚丽贤** 刘忠珍 何兆桓 周昌敏 李国良 杨芭梅 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 采用室内培养的方法,研究磺胺类兽药(磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲噁唑)污染对土壤微生物数量(细菌、真菌、放线菌、固氮菌、兼气性固氮菌、硝化细菌、亚硝化细菌、反硝化细菌及氨化细菌)的影响。结果表明,磺胺类兽药对土壤细菌数量有一定的激活作用,其最大激活率在700%以上。兽药对土壤真菌数量的影响主要呈现抑制作用,其最高抑制率为92.9%。兽药对土壤放线菌数量有一定的抑制作用,对土壤固氮菌数量则有一定的激活作用。兽药对土壤兼气性固氮菌数量的影响表现为较低浓度时($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)抑制,而较高浓度时($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)则激活。兽药对土壤硝化细菌、亚硝化细菌、反硝化细菌及氨化细菌有一定的激活作用,其中对硝化细菌的最大激活率可达1000%以上。

关键词 磺胺类兽药, 土壤微生物数量, 抑制率, 激活率。

随着集约化、规模化养殖业的快速发展,养殖场大量使用兽药,其中大部分以药物原形随粪尿排出,不断进入环境,含有兽药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^[1-2]。土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,在有机质分解、养分循环和植物养分利用过程中发挥着关键的作用^[3-5]。

化学物质与土壤微生物的关系已成为环境科学的重要研究领域。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的研究报道很少^[8-15]。王加龙、马驿等研究发现,兽药对土壤微生物数量具有显著影响。随着药物残留浓度的升高,其对土壤微生物群落代谢多样性及细菌数量的影响也逐渐增大^[16-17]。

磺胺类(sulfonamides, SAs)兽药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^[18-23],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,通过研究这两种药物对土壤微生物数量的影响,以期了解兽药在环境中的生态效应及其对生态环境的潜在危害,以及为兽药的安全使用、环境监测与保护提供依据。

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,未受兽药污染。其理化性质为:干容重为 $1.43\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ 、有机质含量为1.46%、阳离子交换量(CEC)为 $6.22\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、pH值为6.01、有效磷为 $42.37\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、速效钾 $65.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、土壤质地为砂质粘壤土。实验前,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

2011年8月29日收稿。

* 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)支持;公益性行业(农业)科研专项(3-26)资助。

** 通讯联系人, Tel:020-85161473; E-mail:lyaolx@yahoo.com.cn

富康制药有限公司提供,含量均 $\geq 99\%$,2种磺胺药物的标准样品、甲醇和乙腈为Sigma公司提供,其它试剂则均为分析纯,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,配制成质量浓度分别为 $240\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的SM2与SMZ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,用同剂量丙酮处理),T1(土壤中2种磺胺类药物含量均为 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、T2(土壤中2种磺胺类药物含量均为 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。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^[3]。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 d,每周对样品进行称重,补充水分,使其含水量保持稳定。于0、0.5、1、2、4、8、12、25、49 d测定土壤中SM2、SMZ的含量,每个处理重复3次。

细菌、真菌、放线菌采用平板培养法。细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌采用改良高氏1号培养基,真菌采用马丁氏培养基。固氮菌采用平板稀释涂布法,氨化细菌、硝化细菌、亚硝化细菌及反硝化细菌采用最大或然数(MPN)法进行培养测定^[24-25]。

2 结果与讨论

2.1 磺胺类兽药残留对土壤细菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤细菌数量的影响见表1。可以看出,与CK相比,施加磺胺类药物后的第0天与第0.5天,T1对土壤细菌数量即呈现了一定的抑制作用,其抑制率分别为36.6%、13.8%;而T2则呈现一定的激活作用,其激活率为4.3%、42.8%。当第1天时,CK的土壤细菌数量有所下降,而T1和T2的土壤细菌数量则有较大程度的增加,此时对土壤细菌数量的激活率达到最大,分别为760.9%、793.0%。在第25—49天(培养实验结束)内,各处理的细菌数量均有较大程度的下降,T1和T2对土壤细菌数量均呈现激活作用,当培养实验结束时,其激活率分别为287.1%、409.7%。在培养实验期间,T1对土壤细菌数量的影响呈现“抑制-激活”的规律;而T2对土壤细菌数量的影响则一直呈现“激活”的规律。从总体上看,磺胺类药物残留对土壤细菌数量有一定的激活作用。培养实验进行一段时间后,磺胺类兽药对细菌数量表现出激活作用,可能的原因有两方面:一是细菌对该药物表现出了免疫作用;二是该药物进入到土壤后,发生了一定的物理化学变化,从而为细菌提供了碳源,促进其生长。

表1 磺胺类兽药残留对土壤细菌数量的影响

Table 1 Effects of sulfonamides on soil bacteria

培养时间/d	各处理细菌数量($\times 10^7$)/(CFU $\cdot\text{g}^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	12.07 ± 0.21	7.65 ± 0.13	12.59 ± 0.18
0.5	5.90 ± 0.17	5.09 ± 0.07	8.42 ± 0.82
1	2.15 ± 0.11	18.51 ± 0.22	19.21 ± 0.12
2	3.16 ± 0.09	18.19 ± 0.19	20.01 ± 0.21
4	1.14 ± 0.07	1.64 ± 0.10	1.27 ± 0.07
8	0.34 ± 0.06	0.61 ± 0.08	0.64 ± 0.04
25	0.40 ± 0.04	0.88 ± 0.09	0.82 ± 0.08
49	0.31 ± 0.04	1.20 ± 0.11	1.58 ± 0.13

2.2 磺胺类兽药残留对土壤真菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤真菌数量的影响见表2。可以看出,与CK相比,施加磺胺类药物后的第0天,T1和T2对土壤真菌数量即呈现了较强的抑制作用,其抑制率分别为90.9%、82.0%;在第

0.5—1 天内,T1 和 T2 持续对土壤真菌数量的抑制作用,但抑制率随培养时间而降低,当第 1 天时,其抑制率分别为 66.4%、21.3%;当第 2 天时,T1 和 T2 对土壤真菌数量呈现一定的激活作用,其激活率分别为 50.9%、63.8%;在第 4—25 天内,T1 和 T2 对土壤真菌数量又呈现较强的抑制作用且抑制率随培养时间而降低,当第 25 天时,其抑制率分别为 62.6%、50.1%;当第 49 天时(培养实验结束),T1 和 T2 对土壤真菌数量又呈现一定的激活作用,其激活率分别为 24.8%、62.2%。在整个培养实验期间,T2 对土壤真菌数量的抑制率和激活率均比 T1 高。从总体上看,磺胺类药物对土壤真菌数量的影响主要呈现抑制作用。

表 2 磺胺类兽药残留对土壤真菌数量的影响

Table 2 Effects of sulfonamides on soil fungi

培养时间/d	各处理真菌数量($\times 10^4$)/(CFU $\cdot$ g $^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	1.40 $\pm$ 0.06	0.13 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.04
0.5	2.01 $\pm$ 0.11	0.25 $\pm$ 0.05	0.38 $\pm$ 0.07
1	1.14 $\pm$ 0.07	0.38 $\pm$ 0.06	0.90 $\pm$ 0.08
2	1.01 $\pm$ 0.05	1.53 $\pm$ 0.09	1.66 $\pm$ 0.09
4	0.89 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.06
8	0.75 $\pm$ 0.08	0.25 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.07
25	1.00 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.07
49	1.86 $\pm$ 0.12	2.32 $\pm$ 0.10	3.02 $\pm$ 0.13

2.3 磺胺类兽药残留对土壤放线菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤放线菌数量的影响见表 3。可以看出,与 CK 相比,施加磺胺类药物后的第 0—0.5 天,T1 和 T2 对土壤放线菌数量即呈现了一定的激活作用,当第 0.5 天时,其激活率分别为 55.4%、40.2%;当第 1 天时,T1 和 T2 对土壤放线菌数量呈现一定的抑制作用,其抑制率分别为 21.9%、15.1%;当第 2 天时,T1 对土壤放线菌数量继续呈现抑制作用,而 T2 则呈现激活作用;当第 4 天时,T1 和 T2 对土壤放线菌数量的抑制率分别为 4.1% 和 3.7%;在第 8—25 天内,T1 和 T2 对土壤放线菌数量均呈现激活作用,且 T2 的激活率高于 T1,第 8 天时 T2 的激活率达到最大值,为 94.7%;当第 49 天时(培养试验结束),T1 和 T2 对土壤放线菌数量均呈现抑制作用,且 T2 的抑制率高于 T1。从总体上看,磺胺类药物残留对土壤放线菌数量有一定的抑制作用。

表 3 磺胺类兽药残留对土壤放线菌数量的影响

Table 3 Effects of sulfonamides on soil actinomycetes

培养时间/d	各处理放线菌数量($\times 10^5$)/(CFU $\cdot$ g $^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	2.92 $\pm$ 0.12	3.19 $\pm$ 0.09	3.65 $\pm$ 0.08
0.5	1.88 $\pm$ 0.08	2.92 $\pm$ 0.08	2.64 $\pm$ 0.04
1	3.92 $\pm$ 0.12	3.06 $\pm$ 0.06	3.33 $\pm$ 0.05
2	4.05 $\pm$ 0.15	3.82 $\pm$ 0.07	4.33 $\pm$ 0.05
4	3.42 $\pm$ 0.11	3.28 $\pm$ 0.06	3.30 $\pm$ 0.09
8	2.64 $\pm$ 0.07	3.26 $\pm$ 0.06	5.14 $\pm$ 0.12
25	5.00 $\pm$ 0.06	5.73 $\pm$ 0.13	7.49 $\pm$ 0.14
49	4.09 $\pm$ 0.06	2.93 $\pm$ 0.05	2.64 $\pm$ 0.06

2.4 磺胺类兽药残留对土壤固氮菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤固氮菌数量的影响见表 4。可以看出,与 CK 相比,施加磺胺类药物后的第 0 天,T1 和 T2 对土壤固氮菌数量即呈现了一定的激活作用,其激活率分别为 59.8%、129.3%;当第 0.5 天时,T1 和 T2 的土壤固氮菌数量与 CK 接近,当第 1 天时,T1 对土壤固氮菌数量呈现抑制作用,其抑制率为 40.9%,而 T2 则呈现激活作用,其激活率为 5.5%;在第 2—49 天内(培养实验结束),T1 和 T2

对土壤固氮菌数量基本呈现激活作用(除第 8 天时, T2 呈现抑制作用, 其抑制率为 47.0%), 当第 25 天时, T1 和 T2 的土壤固氮菌数量接近, 其激活率均分别为 242.8% 和 255.4%, 当培养实验结束时, T2 的激活率达到最大值, 为 724.6%. 从总体上看, 磺胺类药物残留对土壤固氮菌数量有一定的激活作用.

表 4 磺胺类兽药残留对土壤固氮菌数量的影响

Table 4 Effects of sulfonamides on soil nitrogen-fixing bacteria

培养时间/d	各处理固氮菌数量($\times 10^5$)/(CFU $\cdot$ g $^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	0.69 $\pm$ 0.07	1.10 $\pm$ 0.08	1.57 $\pm$ 0.06
0.5	0.67 $\pm$ 0.06	0.66 $\pm$ 0.06	0.74 $\pm$ 0.04
1	1.19 $\pm$ 0.04	0.70 $\pm$ 0.07	1.25 $\pm$ 0.05
2	1.20 $\pm$ 0.04	2.33 $\pm$ 0.13	1.84 $\pm$ 0.06
4	1.42 $\pm$ 0.05	4.36 $\pm$ 0.12	3.37 $\pm$ 0.07
8	0.68 $\pm$ 0.06	2.40 $\pm$ 0.08	0.36 $\pm$ 0.03
25	0.31 $\pm$ 0.03	1.07 $\pm$ 0.06	1.11 $\pm$ 0.04
49	1.02 $\pm$ 0.05	1.74 $\pm$ 0.07	8.39 $\pm$ 0.13

2.5 磺胺类兽药残留对土壤兼气性固氮菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤兼气性固氮菌数量的影响见表 5. 可以看出, 与 CK 相比, 施加磺胺类药物后的第 0 天, T1 即对土壤兼气性固氮菌数量呈现一定的抑制作用, 其抑制率为 35.8%, 而 T2 则呈现激活作用, 激活率为 78.3%; 当第 0.5 天时, T1 和 T2 的土壤兼气性固氮菌数量与 CK 接近, 当第 1 天时, T1 和 T2 均对土壤兼气性固氮菌数量呈现抑制作用, 其抑制率分别为 25.7%、33.9%; 当第 2 天时, T1 对土壤兼气性固氮菌数量呈现抑制作用, 其抑制率为 26.2%, 而 T2 则呈现激活作用, 其激活率为 571.9%; 当第 4 天时, T1 和 T2 均对土壤兼气性固氮菌数量呈现激活作用, 其激活率分别为 398.0%、733.6%; 在第 8—49 天内(培养实验结束), T1 和 T2 均对土壤兼气性固氮菌数量呈现“抑制-激活-恢复”的规律, 当培养实验结束时, T1 和 T2 均对土壤兼气性固氮菌呈抑制作用, 抑制率分别为 23.4%、21.2%. 但从总体上看, T1 对土壤兼气性固氮菌数量有一定的抑制作用, 而 T2 则相反.

表 5 磺胺类兽药残留对土壤兼气性固氮菌数量的影响

Table 5 Effects of sulfonamides on soil anaerobic nitrogen-fixing bacteria

培养时间/d	各处理兼气性固氮菌数量($\times 10^4$)/(CFU $\cdot$ g $^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	3.18 $\pm$ 0.07	2.04 $\pm$ 0.04	5.67 $\pm$ 0.10
0.5	3.14 $\pm$ 0.04	3.18 $\pm$ 0.08	3.14 $\pm$ 0.08
1	9.11 $\pm$ 0.12	6.77 $\pm$ 0.11	6.02 $\pm$ 0.13
2	5.69 $\pm$ 0.09	4.20 $\pm$ 0.09	38.23 $\pm$ 0.25
4	0.38 $\pm$ 0.03	1.89 $\pm$ 0.06	3.17 $\pm$ 0.07
8	5.66 $\pm$ 0.06	4.89 $\pm$ 0.10	3.21 $\pm$ 0.09
25	5.63 $\pm$ 0.10	8.72 $\pm$ 0.12	15.98 $\pm$ 0.18
49	1.12 $\pm$ 0.05	0.86 $\pm$ 0.06	0.88 $\pm$ 0.06

2.6 磺胺类兽药残留对土壤硝化细菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤硝化细菌数量的影响见表 6. 可以看出, 与 CK 相比, 施加磺胺类药物后的第 0—0.5 天, T1 和 T2 即对土壤硝化细菌数量呈现一定的激活作用; 在第 1—2 天内, T1 和 T2 对土壤硝化细菌数量均呈现抑制作用, 并且当第 1 天时, T1 和 T2 的抑制率达到最大值, 分别为 90.7%、96.6%; 在第 4—8 天内, T1 对土壤硝化细菌数量呈现“抑制-恢复”的规律, 而 T2 则一直呈现激活作用, 当第 25 天时, T1 和 T2 对土壤硝化细菌数量呈现最大激活作用, 其激活率分别为 1062.6%、1064.6%; 当第 49 天时, T1 对土壤硝化细菌数量呈现较强的激活作用, 其激活率为 303.0%, 而 T2 则恢复至 CK 水平. 从总体上看, 磺胺类药物残留对土壤硝化细菌数量有一定的激活作用.

表 6 磺胺类兽药残留对土壤硝化细菌数量的影响
Table 6 Effects of sulfonamides on soil nitrifying bacteria

培养时间/d	各处理硝化细菌数量($\times 10^3$)/(CFU $\cdot$ g $^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	0.14 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.04
0.5	0.35 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.07	0.50 $\pm$ 0.09
1	15.18 $\pm$ 0.16	1.40 $\pm$ 0.10	0.51 $\pm$ 0.08
2	2.53 $\pm$ 0.08	0.36 $\pm$ 0.06	0.25 $\pm$ 0.04
4	11.83 $\pm$ 0.13	10.73 $\pm$ 0.17	17.76 $\pm$ 0.16
8	17.60 $\pm$ 0.27	17.57 $\pm$ 0.21	17.99 $\pm$ 0.29
25	1.50 $\pm$ 0.08	17.44 $\pm$ 0.24	17.47 $\pm$ 0.24
49	0.14 $\pm$ 0.03	0.55 $\pm$ 0.08	0.14 $\pm$ 0.03

2.7 磺胺类兽药残留对土壤亚硝化细菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤亚硝化细菌数量的影响见表 7. 可以看出,在第 0—0.5 天内,T1 的亚硝化细菌数量是 CK 的两倍多,激活率分别为 111.8%、113.9%,且 CK、T1 的亚硝化细菌数量变化不明显;而 T2 的亚硝化细菌数量在第 0 天时与 CK 接近,当第 0.5 天时,T2 则呈现一定的激活作用,其激活率为 189.3%. 在第 1—25 天内,CK 的亚硝化细菌数量变化不明显,T1 和 T2 对土壤亚硝化细菌数量的影响基本呈现激活作用. 当培养试验结束时,T1 和 T2 均未检测出亚硝化细菌,说明其受到了一定的抑制作用. 总体来看,磺胺类药物残留对土壤亚硝化细菌数量有一定的激活作用.

表 7 磺胺类兽药残留对土壤亚硝化细菌数量的影响
Table 7 Effects of sulfonamides on soil nitrosomonas bacteria

培养时间/d	各处理亚硝化细菌数量($\times 10^3$)/(CFU $\cdot$ g $^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	5.72 $\pm$ 0.12	12.11 $\pm$ 0.21	5.67 $\pm$ 0.11
0.5	5.65 $\pm$ 0.15	12.08 $\pm$ 0.18	16.34 $\pm$ 0.23
1	6.96 $\pm$ 0.18	16.60 $\pm$ 0.26	5.76 $\pm$ 0.12
2	6.95 $\pm$ 0.15	12.09 $\pm$ 0.19	12.11 $\pm$ 0.21
4	6.97 $\pm$ 0.12	6.95 $\pm$ 0.11	16.49 $\pm$ 0.29
8	6.92 $\pm$ 0.16	11.92 $\pm$ 0.14	5.78 $\pm$ 0.18
25	6.88 $\pm$ 0.21	5.61 $\pm$ 0.09	16.22 $\pm$ 0.20
49	5.58 $\pm$ 0.17	0.31 $\pm$ 0.04	0.11 $\pm$ 0.03

2.8 磺胺类兽药残留对土壤反硝化细菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤反硝化细菌数量的影响见表 8. 可以看出,在整个培养试验期间,T1 和 T2 对土壤反硝化细菌数量均呈现激活作用,其中第 2 天时,T1 的激活率达到最大值,为 458.9%;第 0 天时,T2 的激活率达到最大值,为 771.9%. 当培养试验结束时,T1 与 CK 的反硝化细菌数量持平,而 T2 的反硝化细菌数量则约是 CK 的两倍. 总体来看,磺胺类药物残留对土壤反硝化细菌数量有明显的激活作用.

表 8 磺胺类兽药残留对土壤反硝化细菌数量的影响
Table 8 Effects of sulfonamides on soil denitrifying bacteria

培养时间/d	各处理反硝化细菌数量($\times 10^5$)/(CFU $\cdot$ g $^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	3.18 $\pm$ 0.08	12.11 $\pm$ 0.21	27.70 $\pm$ 0.31
0.5	6.90 $\pm$ 0.12	16.53 $\pm$ 0.23	32.68 $\pm$ 0.42
1	6.96 $\pm$ 0.16	9.19 $\pm$ 0.13	12.16 $\pm$ 0.26
2	5.69 $\pm$ 0.19	31.80 $\pm$ 0.53	12.11 $\pm$ 0.21
4	3.17 $\pm$ 0.11	12.00 $\pm$ 0.21	5.71 $\pm$ 0.12
8	5.66 $\pm$ 0.16	17.57 $\pm$ 0.31	12.21 $\pm$ 0.24
25	3.13 $\pm$ 0.13	11.84 $\pm$ 0.24	8.74 $\pm$ 0.17
49	1.18 $\pm$ 0.06	1.18 $\pm$ 0.07	2.26 $\pm$ 0.13

2.9 磺胺类兽药残留对土壤氨化细菌数量的影响

磺胺类兽药残留对土壤氨化细菌数量的影响见表9.可以看出,与CK相比,施加磺胺类药物后的第0天,T1和T2即对土壤氨化细菌数量呈现一定的激活作用,其激活率分别为100.7%、352.9%;当第0.5天时,T1继续呈现激活作用,其激活率为7.1%,而T2则呈现一定的抑制作用,其抑制率为11.3%;当第1天时,T1和T2均呈现抑制作用,其抑制率分别为82.3%和81.1%;第2天时,T1继续呈现抑制作用,抑制率为84.9%,而T2则呈现激活作用,其激活率为120.0%;第4天时,T1的氨化细菌数量与CK接近,T2呈现抑制作用,其抑制率为44.2%;在第8—49天(培养实验结束)内,T1一直呈现激活作用,T2则呈现“激活-抑制”的现象.总体来看,磺胺类药物残留对土壤氨化细菌数量有一定的激活作用.

表9 磺胺类兽药残留对土壤氨化细菌数量的影响

Table 9 Effects of sulfonamides on soil ammonification bacteria

培养时间/d	各处理氨化细菌数量($\times 10^7$)/(CFU $\cdot g^{-1}$)		
	CK	T1	T2
0	4.45 $\pm$ 0.14	8.92 $\pm$ 0.22	20.15 $\pm$ 0.30
0.5	2.20 $\pm$ 0.07	2.35 $\pm$ 0.11	1.95 $\pm$ 0.18
1	1.15 $\pm$ 0.06	0.20 $\pm$ 0.03	0.22 $\pm$ 0.08
2	9.27 $\pm$ 0.19	1.40 $\pm$ 0.09	20.39 $\pm$ 0.32
4	1.20 $\pm$ 0.06	1.17 $\pm$ 0.06	0.67 $\pm$ 0.11
8	0.20 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.04	0.22 $\pm$ 0.03
25	0.10 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.03
49	0.15 $\pm$ 0.02	0.20 $\pm$ 0.03	0.10 $\pm$ 0.02

3 结论

通过研究不同浓度条件及培养时间下磺胺类药物对土壤细菌、真菌、放线菌、固氮菌、兼气性固氮菌、硝化细菌、亚硝化细菌、反硝化细菌及氨化细菌数量的影响,得到以下结论:

(1)磺胺类药物对土壤细菌数量有一定的激活作用,其最大激活率在700%以上.在培养试验期间,较低浓度药物(10 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)对土壤细菌数量的影响呈现“抑制-激活”的规律;而较高浓度药物(50 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)对土壤细菌数量的影响则一直呈现“激活”的规律.磺胺类兽药对细菌数量表现出激活作用,可能的原因有两方面:一是细菌对该药物表现出了免疫作用,二是该药物进入到土壤后,发生了一定的物理化学变化,从而为细菌提供了碳源,促进其生长.

(2)在整个培养实验期间,较高浓度药物(50 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)对土壤真菌数量的抑制率和激活率均比较低浓度药物(10 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)的高,磺胺类药物对土壤真菌数量的影响主要呈现抑制作用,其最高抑制率为92.9%.

(3)磺胺类药物对土壤放线菌数量有一定的抑制作用,对土壤固氮菌数量则有一定的激活作用.

(4)较低浓度磺胺类药物(10 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)对土壤兼气性固氮菌数量有一定的抑制作用,而较高浓度药物(50 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)则相反.

(5)磺胺类药物对土壤硝化细菌、亚硝化细菌、反硝化细菌及氨化细菌有一定的激活作用.其中磺胺类药物对硝化细菌的最大激活率可达1000%以上.

参 考 文 献

- [1] Nicole Kemper. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment[J]. 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[J]. 生态毒理学报,2007, 2(1): 1-9
- [3] 金彩霞,刘军军,陈秋颖,等. 兽药磺胺间甲氧嘧啶对土壤呼吸及酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报,2010, 29(2): 314-318
- [4] Kirk J L, Beaudette L A, Hart M, et al. Methods of studying soil microbial diversity [J]. Journal of Microbiological Methods, 2004, 58: 169-188
- [5] Steenwerth K L, Jackson L E, Calderon F J, et al. Soil microbial community composition and land use history in cultivated and grassland

- ecosystems of coastal California[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34: 1599-1611
- [6] 王静, 乔雄梧, 朱九生, 等. 四种农药对土壤微生物的影响: 土壤呼吸的变化[J]. *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[J]. *环境科学*, 2001, 22(4): 73-76
- [8] Ingham E R, Coleman D C, Parmelee R. Reduction of microbial and faunal groups following application of streptomycin and captan in Georgia no-tillage agroecosystem[J]. *Pedobiologia*, 1991, 35: 297-304
- [9] 姚建华, 牛德奎, 李兆君, 等. 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[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(4): 721-728
- [10] 刁晓平, 孙英健, 孙振钧, 等. 安普霉素对不同土壤中微生物活动的影响[J]. *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[D]. 南京: 南京师范大学硕士学位论文, 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[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 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[D]. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 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[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2008
- [15] 魏松林. 抗生素污染土壤细菌生态学及其耐药性研究[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2008
- [16] 王加龙, 刘坚真, 陈杖榴, 等. 恩诺沙星残留对土壤微生物数量及群落功能多样性的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2005, 11: 86-89
- [17] 马骅, 陈杖榴, 曾振灵. 恩诺沙星对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. *生态学报*, 2007, 27: 3400-3406
- [18] Haller M Y, Muller R S, Mcardell C S, et al. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2002, 952: 111-120
- [19] Blackwell P A, Lützhøft H C H, Ma H P. Ultrasonic extraction of veterinary antibiotics from soils and pig slurry with SPE clean-up and LC-UV and fluorescence detection[J]. *Talanta*, 2004, 64: 1058-1064
- [20] Elena M C, Carmen G B, Scharf S, et al. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 148: 1-10
- [21] HU Xian-Gang, Yi Luo, ZHOU Qi-Xing, et al. Determination of thirteen antibiotics residues in manure by solid phase extraction and high performance liquid chromatography[J]. *Chin J Anal Chem*, 2008, 36(9): 1162-1166
- [22] Zhao Ling, Dong Yuan Hua, Wang Hui. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408: 1069-1075
- [23] 陈昇, 董元华, 王辉, 等. 江苏省畜禽粪便中磺胺类药物残留特征[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(1): 385-389
- [24] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986
- [25] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986

The impact of sulfonamide veterinary drugs on soil microbes quantity

GUO Bin YAO Lixian* LIU Zhongzhen HE Zhaohuan ZHOU Changmin
LI Guoliang YANG Baomei HUANG Lianxi

(Soil and Fertilizer Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Nutrient Cycling and FarmLand Conservation, Guangzhou, 510640, China)

ABSTRACT

The effects of veterinary sulfonamides (sulfamethazine, sulfamethoxazole) pollution on soil microbes quantity (bacteria, fungi, actinomycetes, nitrogen-fixing bacteria, aerobic nitrogen-fixing bacteria, nitrifying bacteria, nitrosomonas bacteria, denitrifying bacteria and ammonification bacteria) were studied by indoor cultivating. The results show that soil bacteria was activated by veterinary sulfonamides, the maximum activation rate reached above 700%. The effects on soil fungi were mainly for inhibition by veterinary drugs, the maximum inhibition rate reached 92.9%. Soil actinomycetes was inhibited and nitrogen-fixing bacteria was activation by veterinary drugs. The effects on soil aerobic nitrogen-fixing bacteria show inhibition at low level ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and activation at high level ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) by veterinary drugs. The effects on soil nitrifying bacteria, nitrosomonas bacteria, denitrifying bacteria and ammonification bacteria show activation by veterinary drugs, and the maximum activation rate of nitrifying bacteria reached above 1000%.

Keywords: veterinary sulfonamides, soil microbes, inhibition rate, activation rate.