

三种抗生素对土壤呼吸和硝化作用的影响

杨基峰^{1, 2, 3}, 应光国^{1*}, 赖华杰¹, 赵建亮¹, 刘珊¹, 周丽君¹

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, 广东 广州 510640;

2. 湖南文理学院化学化工学院, 湖南 常德 415000; 3. 湖南大学化学化工学院, 湖南 长沙 410082

摘要: 抗生素广泛用于人体和动物疾病治疗, 但使用后大部分以母体形式排除体外, 通过污泥还田、污灌及其他各种途径进入土壤环境, 对陆生生态环境产生潜在威胁。为评价抗生素对土壤微生物活性和功能的影响, 以 3 种不同抗生素(磺胺嘧啶、氧四环素和诺氟沙星)为靶标化合物, 采用 OECD 标准土壤呼吸实验和氮硝化实验方法, 运用 SPSS 软件对实验结果进行统计分析, 考察抗生素对土壤微生物活性和氮转化功能的影响。实验结果显示: 在呼吸实验中, 磺胺嘧啶和氧四环素在初始阶段对土壤呼吸具有一定的抑制作用, 并且氧四环素的抑制强度低于磺胺嘧啶, 其最高抑制率分别为 76.8% 和 20.7%; 在实验后期则出现一定激活作用, 最高激活率分别为 343% 和 218%, 随着时间的推移激活效应减弱。诺氟沙星在呼吸实验初期对微生物活性出现激活作用, 最高激活率为 15.4%; 后期则出现一定的抑制作用, 最高抑制率为 21.9%。在硝化实验中, 磺胺嘧啶对土壤 A 的微生物硝化作用在各处理之间未出现显著性差异, 而对土壤 B 则具有一定抑制作用, 最高抑制率为 20%; 氧四环素和诺氟沙星则相反, 在土壤 A 中对微生物硝化作用的抑制率分别为 50% 和 19%, 这种硝化作用差别性可能是由于土壤 pH 值和抗生素本身的抗菌谱所引起。通过以上实验结果可得出如下结论: 3 种不同类型的抗生素对土壤的微生物活性和氮转化功能会产生不同的作用, 这种不同主要来自于抗生素种类、土壤类型及抗生素的浓度等因素的影响。因此, 土壤中抗生素的引入将对陆生生态环境造成一定影响, 在实际粪便还田过程中应开展风险评估。

关键词: 抗生素; 土壤; 呼吸作用; 硝化作用

中图分类号: X131.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-5906 (2014) 06-1050-07

引用格式: 杨基峰, 应光国, 赖华杰, 赵建亮, 刘珊, 周丽君. 三种抗生素对土壤呼吸和硝化作用的影响[J]. 生态环境学报, 2014, 23(6): 1050-1056.

YANG Jifeng, YING Guangguo, LAI Huajie, ZHAO Jianliang, LIU Shan, ZHOU Lijun. Effects of three types of antibiotics on soil respiration and nitrification [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2014, 23(6): 1050-1056.

抗生素常用于预防和治疗人体和动物疾病, 也作为动物的生长促进剂。抗生素使用后, 很大一部分以母体或具活性代谢产物形式排出体外, 残留于粪便中。如张树清等(2005)对中国 7 省的典型规模化养殖场畜禽粪便中抗生素进行分析, 其中猪粪中土霉素的平均质量分数为 9.09 mg·kg⁻¹, 最高达 135 mg·kg⁻¹; 四环素的平均质量分数为 5.22 mg·kg⁻¹, 最高为 78.6 mg·kg⁻¹; 金霉素平均质量分数为 3.57 mg·kg⁻¹, 最高为 122 mg·kg⁻¹。粪便中含有植物所需要的氮、磷和钾等营养元素, 在传统农业耕作中常作为肥料施入土壤, 以提高农作物的产量。与此同时, 粪便中所含的抗生素也随之进入土壤环境中。研究表明: 在中国检测到土壤中含有土霉素的最高可达 200 mg·kg⁻¹ (王冉等, 2006), 而通过粪便形式进入土壤的抗生素每公顷可达数公斤 (Kemper, 2008)。

由于一些抗生素在环境条件下的消解速率缓慢, 以及粪便的连续输入, 造成在土壤中抗生素的浓度较高。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分, 对物质的循环和土壤肥力的形成具有重要意义。由于抗生素对微生物具有一定的抑制甚至杀死作用, 对土壤微生物数量、活性以及功能产生一定影响。因此, 抗生素对土壤微生物的影响最终会波及整个土壤生态系统。土壤呼吸作用和土壤氮转化能力是衡量土壤微生物活性的重要指标, 二者的动态变化直接反应了土壤生态系统功能变化 (Malchair and Carnol, 2009)。Kong 等 (2006) 研究发现土霉素对土壤微生物群落功能多样性的抑制率达 20%, 抑制作用最大的浓度为 43 μmol·L⁻¹, 随着浓度的增加抑制率反而略有下降。刘锋等 (2009) 研究了抗生素对土壤微生物呼吸的影响, 发现磺胺甲噁唑、磺胺

基金项目: 国家自然科学基金项目 (U1133005); 有机地球化学国家重点实验室开放基金 (OGL-201206); 湖南省自然科学基金 (13JJ3155)

作者简介: 杨基峰 (1977 年生), 男, 副教授, 主要研究环境化学与生态毒理学。E-mail: clark_yang@yeah.net

*通信作者, E-mail: guang-guo.ying@gig.ac.cn

收稿日期: 2014-04-01

甲恶唑、氯四环素、四环素、泰乐素和甲氧苄啶对土壤呼吸的最大抑制率分别为 34.3%、34.4%、2.71%、3.08%、7.13%和 38.1%，并表现出剂量依赖效应。

目前虽对抗生素对土壤微生物功能开展一定研究，当关于不同抗生素对土壤氮硝化作用和土壤性质在抗生素对土壤微生物功能方面的影响研究较少。因此，本实验以土壤呼吸作用和土壤氮硝化能力为指标，研究磺胺嘧啶、氧四环素和诺氟沙星对土壤微生物活性的影响，同时考察不同土壤性质对抗生素作用的影响，实验的研究结果将为抗生素的陆生生态风险评价提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 化学品

磺胺嘧啶标样(纯度为 99.5%)购自美国 IL 公司; 氧四环素(纯度为 98.5%)和诺氟沙星标样(纯度为 98%)购自南京德宝生化有限公司; 其他试剂均为分析纯。

1.2 供试土壤

本实验用土采自从不同地点的 0~20 cm 表层土壤，去除树枝等杂质，风干后过 2 mm 筛，用密封袋封存后置于 4 °C 下，备用。土壤的理化性质见表 1。

1.3 实验方法

呼吸实验方法参照 OECD (2000a)，氮转化实验参照 OECD (2000b) 标准方法。

1.4 数据的处理

实验数据用 Excel 处理, Duncan 检验采用 SPSS 统计软件处理。

2 实验结果

2.1 磺胺嘧啶对土壤呼吸强度的影响

经过 21 d 的培养，土壤呼吸强度结果见表 2。由表 2 可看出，在土壤 A 中 0~2 d 内与对照土壤比较，磺胺嘧啶质量分数低 (1.0~10.0 mg·kg⁻¹) 的土壤呼吸强度未发生显著变化；在高质量分数下 (50.0~200 mg·kg⁻¹) 土壤呼吸强度表现为抑制作用，且随着含量的提高，抑制程度也相应地增强；当土壤中磺胺嘧啶添加质量分数为 200 mg·kg⁻¹ 时，其抑制强度达到 76.8%。在 2~4 d 内 50 和 100 mg·kg⁻¹ 的土壤呼吸强度表现出强烈的激活作用，激活作用分别为 68.3%和 64.2%，且这两者之间处于同一水平。其他处理土壤与对照相比，呼吸强度未表现出任何抑制作用。在 4~8 d 内，在低质量分数下 (1~10 mg·kg⁻¹)，呼吸强度基本未发生显著变化，而高质量分数下，其呼吸强度进一步被激活，当质量分数为 200 mg·kg⁻¹ 时，其激活强度高达 343%。在 8~14

表 1 土壤的理化性质

Table 1 Physicochemical property of the two soils

土壤类型	w(有机质)/%	w(总氮)/%	b(阳离子交换量)/(cmol(+)-kg ⁻¹)	pH	最大持水量/%	机械组成/%		
						w(黏土)	w(壤土)	w(砂土)
土壤 A	2.41	0.16	9.60	4.30	48.4	31.8	39.3	28.9
土壤 B	2.68	0.15	9.51	6.67	52.1	32.5	41.2	26.3

表 2 抗生素对土壤呼吸作用的影响

Table 2 The effect of antibiotics on respiration of soils

CO₂ mg·100 g 干土⁻¹

抗生素类型	培养时间/d	w(土壤 A 处理)/(mg·kg ⁻¹)							w(土壤 B 处理)/(mg·kg ⁻¹)						
		0	1	5	10	50	100	200	0	1	5	10	50	100	200
磺胺嘧啶	0~2	97.7a	96.4a	100a	97.7a	53.7b	41.3c	22.7d	51.9a	46.8b	46.4b	43.6c	39.8d	39.6d	36.5e
	2~4	69.5bc	63.8c	67.1bc	74.1b	117a	114a	68.4bc	128a	128a	136a	121a	46.0b	44.7b	40.5b
	4~8	11.2c	9.90c	10.5c	10.1c	25.1b	28.1b	49.6a	18.2c	18.8c	18.1c	30.1b	46.9a	19.0c	19.4c
	8~14	5.93d	7.39c	6.78cd	7.21cd	10.2b	9.66b	11.9a	6.66d	6.23d	6.23d	6.42d	19.2c	28.3a	25.1b
	14~21	3.40d	4.50cd	6.70b	5.97bc	7.02b	7.28b	8.85a	3.88b	3.51b	3.30b	3.98b	5.13b	12.6a	14.1a
氧四环素	0~2	86.5a	81.4ab	84.2ab	80.7b	79.0b	79.4b	68.6c	50.8a	51.0a	51.7a	50.8a	49.0a	49.3a	43.1b
	2~4	85.8c	95.2abc	93.9abc	100a	89.3bc	96.3ab	94.1abc	132a	129a	131a	133a	122a	124a	86.5b
	4~8	10.6d	15.4cd	16.5bcd	19.9bc	24.5b	17.1bcd	33.7a	14.4e	21.9cde	16.3de	26.2bcd	34.8ab	30.5c	42.4a
	8~14	8.31c	9.47abc	10.1a	9.47abc	8.56bc	8.43c	9.90ab	6.42b	7.46b	7.46b	7.64b	8.68b	8.25b	16.8a
	14~21	5.87d	6.29bcd	7.07ab	7.33a	6.91abc	6.13cd	6.86abc	5.71c	6.29bc	5.76bc	6.18bc	6.23bc	6.34b	7.80a
诺氟沙星	0~2	87.5c	101a	98.1ab	92.6bc	97.2ab	93.5bc	95.2ab	53.0c	59.4b	59.0b	58.9b	65.1a	66.7a	62.5ab
	2~4	78.8bc	81.2ab	67.7d	69.9d	77.7bc	86.2a	73.9cd	110a	81.0bc	92.0ab	71.9bcd	49.1d	55.0d	62.3cd
	4~8	36.1a	28.2b	32.5ab	28.5b	29.6ab	31.4ab	28.6b	27.1a	21.5ab	21.6ab	19.1b	15.8b	17.4b	18.5b
	8~14	19.1a	14.9a	15.1a	16.7a	15.7a	17.5a	14.7a	14.1a	11.3abc	10.9bc	8.31c	11.8ab	10.2bc	11.2abc
	14~21	10.3a	9.53a	10.1a	10.3a	9.90a	9.21a	9.06a	5.97a	4.35bc	2.93bc	2.10b	3.20bc	3.40bc	3.30bc

d 内低质量分数 (除 $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 呼吸强度没有明显改变;而在高质量分数下,虽然表现为激活作用,但其强度减弱,最高仅为 101% ($200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。在最后的 7 d 培养时间里,与对照相比,仅 $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤未表现出任何抑制和激活作用,其他处理土壤均表现出一定的激活作用。

在土壤 B 中 0~2 d 内,与对照相比,几种处理土壤呼吸强度表现出抑制作用,而且随质量分数的增加抑制作用更强;在 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤中其抑制率达 29.7%。在 2~4 d 内低质量分数 (1 和 $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 处理土壤的呼吸抑制作用解除;而在高质量分数下其抑制作用反而增加,抑制率最高达到 68.4%。在 4~8 d 内 10 和 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤的呼吸强度明显被激活,激活率分别达到 65.4% 和 158%,而其他处理土壤均未表现出任何抑制或激活效应。在 8~14 d 内与对照处理相比,低质量分数 (1 、 5 和 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 土壤呼吸强度均未发生明显变化,而在高质量分数下表现出强烈的激活作用,其最高激活率达到 324%。在 14~21 d 内 100 和 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤呼吸强度仍表现出强烈的激活作用,而其他处理土壤和对照相比,呼吸强度未发显著变化。

从总体来看,磺胺嘧啶在初始阶段对土壤呼吸作用具有一定的抑制作用,而在后期则具有一定激活作用,这与其他研究结果相似 (Kotzerke 等, 2008; Thiele-Bruhn 和 Beck, 2005)。Kotzerke 等 (2008) 研究发现在前 4 d 内,2 种浓度的磺胺嘧啶对土壤 K 的呼吸产生抑制作用,而在土壤 M 中仅高浓度产生抑制;但无论怎样,在第 32 天后所有抑制作用都解除。由于磺胺嘧啶在土壤中消解速率较快,并且可能与土壤形成结合残留。当磺胺嘧啶添加至土壤后,土壤的呼吸作用受到一定程度的抑制,随着时间的延长磺胺嘧啶逐渐消减并与土壤形成结合残留,其抑制作用解除。而且,土壤微生物能够降解磺胺嘧啶,能够利用磺胺嘧啶作为碳源或能源。因此,在实验后期磺胺嘧啶对土壤呼吸具有一定激活作用。

2.2 氧四环素对土壤呼吸强度的影响

氧四环素对土壤呼吸强度的影响结果见表 1。由表 1 可以看出,土壤 A 中 0~2 d 内低质量分数 ($1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的处理土壤呼吸强度未发生明显变化;而高质量分数下土壤呼吸强度受到轻微的抑制作用,最高抑制率为 20.7%。在 2~4 d 内 10 和 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理土壤强度表现出轻微的激活效应,激活率分别为 16.5% 和 12.3%。其他处理与对照相比,呼吸强度未发生显著变化。在 4~8 d 各处理土壤均表现出一定的激活作用,激活作用最强的为 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤。在随后培养时间氧四环素对土

壤呼吸强度影响较小。在土壤 B 中,在前 4 天的培养时间里,与对照土壤相比,仅 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤的呼吸强度受到一定程度的抑制作用,抑制率为 15.2%。在 4~8 d 高质量分数处理土壤呼吸强度均表现出激活作用,最高激活率为 194%。在随后的培养时间里,土壤呼吸强度的激活作用逐渐减弱。这主要是由于随着时间的延长,氧四环素通过吸附和降解作用,其生物有效性降低 (Halling-Sørensen 等, 2002)。如 Hund-Rinke 等 (2004) 将土壤培养 8 周后进行实验,当质量分数为 $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,土壤呼吸抑制作用才会发生,主要是由于土壤微生物经过一段时间驯化后,已经适应此种环境。与其相反,Boleas 等 (2005) 实验结果表明:培养 28 d 后,氧四环素对土壤呼吸作用仍然具有抑制效应,在 $1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 质量分数下抑制率达到 40%,这可能是由于土壤条件的改变,吸附的氧四环素重新释放出来。Vaclavik 等 (2004) 发现氧四环素质量分数在 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,对呼吸作用的抑制率达到 40%;而在质量分数为 $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,只有轻微的抑制作用,其抑制作用强度明显高于本实验所得结果。另有研究表明,氧四环素在 2 d 后对土壤呼吸产生明显的抑制作用,其 IC_{50} 分别为 $19.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Thiele-Bruhn 和 Beck, 2005)。

总的来说,氧四环素在加药初期对土壤呼吸作用有轻微的抑制作用,明显低于磺胺嘧啶的抑制程度。这主要是由于氧四环素具有较强吸附特性,使其生物有效性降低。在培养中期,氧四环素对土壤呼吸呈现一定的激活作用,但随着时间的推移其激活作用也逐渐减弱,这主要是由于土壤微生物逐渐适应添加氧四环素的土壤环境,将其作为碳源或能源。

2.3 诺氟沙星对土壤呼吸强度的影响

诺氟沙星对土壤呼吸强度的影响结果见表 1。由表 1 可以看出,土壤 A 中在 0~2 d 内,与对照比较不同浓度诺氟沙星处理土壤的呼吸强度均出现一定的激活作用,尤其是 $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的土壤,其激活率达到 15.4%。在 2~4 d 内土壤呼吸强度的激活作用减弱,仅 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤出现显著激活效应; 5 和 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤呼吸强度出现显著的抑制效应,抑制率达到 14.0% 和 11.3%;而 1 、 50 和 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的土壤呼吸强度与对照相比并未出现显著性差异。在 4~8 d 各处理土壤的呼吸强度均出现一定的抑制作用,最高抑制率达到 21.9%。在随后的培养时间里,各处理土壤呼吸强度的抑制作用逐渐解除,处理土壤与对照相比呼吸强度未出现显著差异。

在土壤 B 中 0~2 d 内,各处理土壤呼吸强度均

表现出一定的激活作用，并且随着浓度的提高，激活强度也增强，最高激活率达 25.8%。在 2~4 d 激活作用消失，进而出现一定的抑制作用；并且高浓度下抑制作用更强。如当质量分数为 50 mg·kg⁻¹ 时，诺氟沙星对土壤呼吸强度的抑制率达到 55.4%。在 4~8 d 内 1 和 5 mg·kg⁻¹ 土壤呼吸抑制作用解除，但是其他高浓度处理的土壤的呼吸强度仍受到一定程度的抑制。在随后的培养时间里，土壤呼吸强度与对照相比，均出现微弱的抑制作用。

诺氟沙星对土壤呼吸产生作用的特点明显与前 2 种抗生素不同，在加药初期出现反常的激活作用，这可能是由于诺氟沙星对土壤微生物具有一定的刺激作用。而后则出现一定的抑制作用，可能因为其代谢产物对土壤微生物具有一定的抑制作用。但随着时间的推移，其抑制作用也逐渐解除，这可能由于诺氟沙星本身的消减及吸附作用最终使其生物有效性降低，进而减轻了对土壤微生物的毒害作用。

2.4 抗生素对土壤硝化作用影响

3 种不同抗生素对土壤硝化作用，结果见图 1~图 3。由图 1 可以看出，在土壤 A 中培养 21 d 后，不同浓度磺胺嘧啶处理的土壤中硝态氮的含量与对照处理相比，有略微降低。通过 Duncan 检验得出，不同处理与对照相比不存在显著差异 ($P=0.05$ 水平)，并且不同处理之间也同样不存在显著性差异。说明在土壤 A 中磺胺嘧啶的输入对土壤的硝化作用基本不影响。在土壤 B 中不同处理土壤中硝态氮的含量与对照相比均有一定程度的下降，并且随着磺胺嘧啶质量分数的增加，硝态氮的含量出现下降的趋势（除 5 mg·kg⁻¹ 土壤外）。通过 Duncan 检验 ($P=0.05$)，5、50、100 和 200 mg·kg⁻¹ 的土壤与对照处理之间存在显著性差异，但它们相互之间不存在显著性差异；1 和 10 mg·kg⁻¹ 的土壤与对照相比也不存在显著差异。当添加质量分数为 200 mg·kg⁻¹ 时，抑制率为 20%，此结果与其他研究结果类似。Kotzerke 等 (2008)

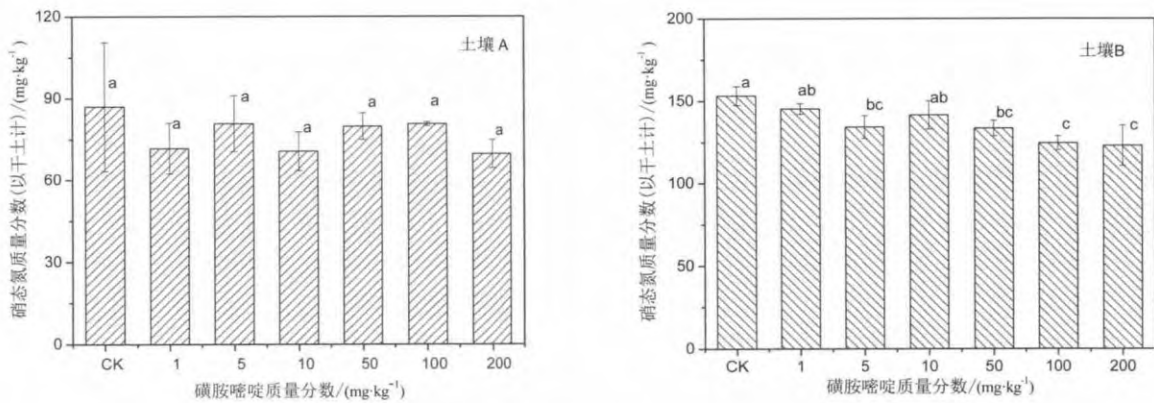


图 1 磺胺嘧啶对土壤硝化作用的影响

Fig.1 The effects of sulfadiazine on soil nitrification activities

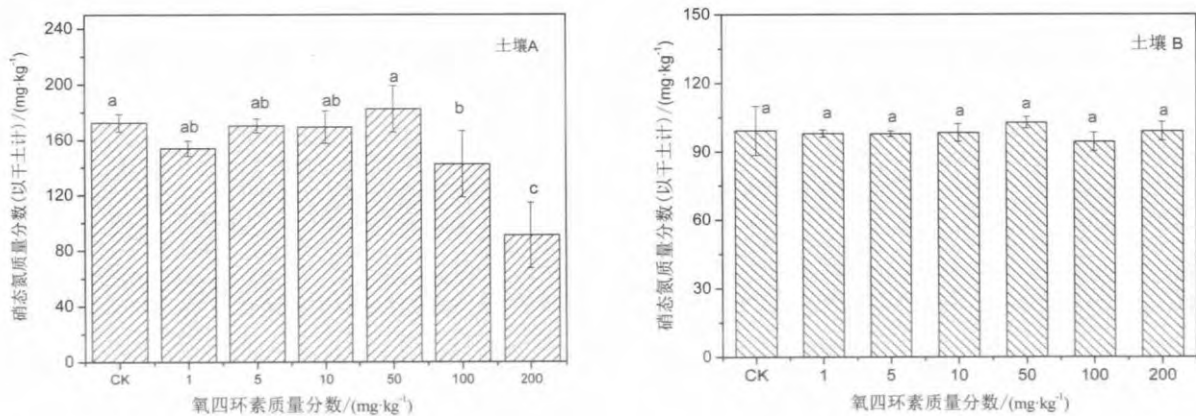


图 2 氧四环素对土壤硝化作用的影响

Fig.2 The effect of oxytetracycline on soil nitrification activities

研究发现:低质量分数磺胺嘧啶 ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 处理土壤与对照相比,氮硝化速率未出现明显变化;仅高质量分数 ($100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的磺胺嘧啶导致氮硝化速率的显著下降。从土壤微生物群落水平、酶水平或是基因水平,磺胺嘧啶对土壤中的氮硝化过程均显示出一定的影响。

由图2可以看出,在土壤A中氧四环素处理的土壤与对照相比,硝态氮的含量在低质量分数下 ($1, 5, 10$ 和 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 不存在显著性差异。但在高质量分数下 (100 和 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 却存在显著性差异,并且浓度越高,差异越显著,说明在高质量分数下氧四环素对土壤硝化作用产生一定影响,最大抑制率为47%。而在土壤B中不同浓度氧四环素处理的土壤与对照相比,硝态氮的含量有略微的提高。通过 Duncan 检验 ($P=0.05$) 各种不同处理与对照之间均不存在显著性差异。关于氧四环素对氮硝化作用的影响研究结果呈现一定差异。如在活性污泥中,氧四环素 ($0\sim 250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 对生物量和氮硝化过程均没有明显影响 (Gomez 等, 1996); Campos 等 (2001) 研究发现氧四环素在 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时引起生物膜脱落,但在 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,氮硝化过程都未受影响;当质量浓度从 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提高到 $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,氮硝化速率的抑制率为50%。

诺氟沙星对土壤硝化作用的影响见图3。由图3可以看出,在土壤A中 $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤中硝态氮的含量略高于空白对照,二者之间存在显著性差异;说明诺氟沙星在低浓度下对氮硝化作用具有一定激活作用,激活率为9%,而5、10、50和 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤中硝态氮含量则与对照相差不大,不存在显著性差异。在 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土壤中,土壤硝态氮的含量明显低于空白对照,二者之间存在显著性差异。研究结果表明在高浓度下,诺氟沙星对土壤A中微生物

的硝化作用具有抑制作用,最大抑制率为19%。在土壤B中不同处理之间,土壤中硝态氮的含量变化不大,不存在显著性差异。

土壤的硝化作用受很多因素影响,如土壤酸度、通气状况、温度和湿度、氨氮含量等。由于硝化反应本身是个产酸反应,pH值对其过程影响较大。在本研究中,2种土壤中pH值差别较大(4.30和6.67),因此它们的硝化过程区别可能较大。磺胺嘧啶对土壤A的硝化作用没有影响,而对土壤B硝化作用却有影响;氧四环素和诺氟沙星则相反,对土壤A的硝化作用有影响,但对土壤B却无影响。此种差别可能是由于土壤pH值和抗生素本身的抗菌谱所引起。一般认为随着抗菌谱的扩大,抗生素对氮硝化作用的影响也越大 (Halling-Sørensen, 2001)。

3 讨论

土壤环境中的抗生素的抗菌作用受很多因素影响,如本身的理化特性、气候条件、土壤类型以及其他环境条件。因此,抗生素对土壤微生物的影响需从不同角度进行阐述。

首先,磺胺嘧啶、氧四环素和诺氟沙星的抗菌机理完全不同。磺胺嘧啶通过抑制叶酸的合成而抑制细菌的繁殖;氧四环素可通过与核蛋白体的30S亚单位结合,从而阻止氨酰基tRNA同核蛋白体结合;诺氟沙星通过作用于细菌DNA螺旋酶的A亚单位,抑制DNA的合成和复制而导致细菌死亡。3种抗生素的不同抗菌机制可能是它们对土壤呼吸作用和氮硝化作用影响呈现出不同特点的一个重要因素。

其次,抗生素的理化性质。由于抗生素在土壤中的物理化学行为主要受其本身的化学结构所决定。一般来讲,抗生素分子结构、大小、形态、水

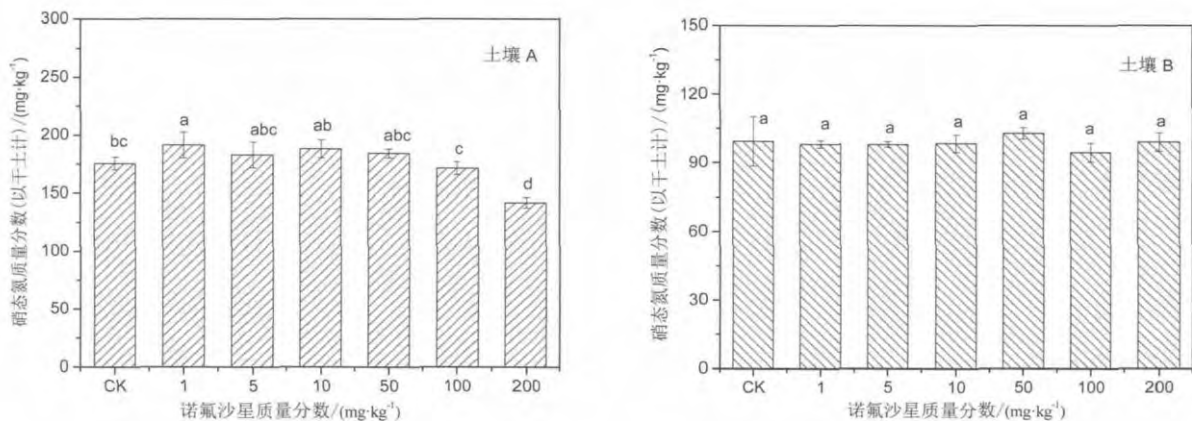


图3 诺氟沙星对土壤硝化作用的影响

Fig.3 The effect of norfloxacin on soil nitrification activities

溶性和亲水性不同,其在土壤中的吸附行为也将完全不同。实验中3种抗生素在土壤中的吸附强弱相差较大,氧四环素的分配系数为 $1026\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Rabølle 和 SPLIID, 2006),磺胺嘧啶为 $2.0\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Thiele-Bruhn 等, 2004),而诺氟沙星则高于 $1100\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ (张劲强和董元华, 2007)。在实验初期,磺胺嘧啶能够强烈抑制土壤呼吸作用,而氧四环素和诺氟沙星则对土壤呼吸作用较弱,甚至出现刺激作用。这可能是由于氧四环素和诺氟沙星施用土壤后,强烈吸附于土壤上,从而导致其抗菌作用效果下降。Zielezny 等(2006)研究发现:磺胺嘧啶在 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时就能够改变土壤微生物组成;相反,氯四环素在 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 对土壤呼吸作用都未发生影响。当然,吸附作用虽然影响抗生素的抗菌作用,但并不意味着抗菌活性完全丧失(Sengeløvs 等, 2003)。例如,被黏土紧密吸附的四环素和泰乐素仍然保持一定的活性,对环境中的耐药菌具有一定的选择性(Chander 等, 2005)。

最后,土壤类型在一定程度上影响着抗生素的抗菌作用,这其中包括微生物种类和数量、土壤的物理性质等。在本研究中,3种抗生素在2种不同土壤中对土壤呼吸和氮硝化作用影响不尽相同。而这2种土壤最显著的区别在于土壤的pH不同,分别为4.30(土壤A)和6.67(土壤B)。这3种抗生素都具2个或以上的解离常数,在不同pH的土壤中它们会以不同离子形态存在,这些不同形态抗生素的抗菌效果以及在土壤中的行为则发生一定的改变,最终导致本实验结果的不同。

4 结论

1)从总体上看,磺胺嘧啶和氧四环素在初始阶段对土壤呼吸作用具有一定的抑制作用,而在后期则具有一定刺激作用,但氧四环素的抑制作用明显低于磺胺嘧啶;诺氟沙星对土壤呼吸作用的特点明显与前2种抗生素不同,在加药初期出现激活作用。

2)磺胺嘧啶对土壤A的硝化作用没有影响,而对土壤B硝化作用却有影响;氧四环素和诺氟沙星则相反,对土壤A的硝化作用有影响,但对土壤B却无影响。

参考文献:

BOLEAS S, ALONSO C, PRO J, et al. 2005. Toxicity of the antimicrobial oxytetracycline to soil organisms in a multi-species-soil system (MS-3) and influence of manure co-addition[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 122: 233-241.

CAMPOS J L, GARRIDO J M, MÉNDEZ R, et al. 2001. Effect of two broad-spectrum antibiotics on activity and stability of continuous nitrifying system [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 95:

1-10.

CHANDER Y, KUMAR K, GOYAL S M, et al. 2005. Antibacterial activity of soil bound antibiotics[J]. *Journal of Environmental Quality*, 34: 1952-1957.

GOMEZ J, MENDEZ R, AND LEMA J M. 1996. The effect of antibiotics on nitrification process[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, (57/58): 869-876.

HALLING-SØRENSEN B, SENGELOV G AND, Tjørnelund J. 2002. Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42: 263-271.

HALLING-SØRENSEN B. 2001. Inhibition of aerobic growth and nitrification of bacteria in sewage sludge by antibacterial agents [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 451-460.

HUND-RINKE K, SIMON M AND, LUKOW T. 2004. Effects of tetracycline on the soil microflora: function, diversity, resistance [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 4:11-16.

KEMPER N. 2008. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment [J]. *Ecological Indicators*, 8:1-13.

KONG W D, ZHU Y G, FU B J, et al. 2006. The veterinary antibiotic oxytetracycline and Cu influence functional diversity of the soil microbial community [J]. *Environmental Pollution*, 143(1): 129-137.

KOTZERKE A, SHARMA S, SCHAUSS K, et al. 2008. Alterations in soil microbial activity and N-transformation processes due to sulfadiazine loads in pig-manure [J]. *Environmental Pollution*, 153: 315-322.

MALCHAIR S AND, CARNOL M. 2009. Microbial biomass and C and N transformations in forest floor under European beech, sessile oak, Norway spruce and Douglas-fir at four temperate forest sites [J]. *Soil biology and biochemistry*, 41: 831-839.

OECD. 2000a. OECD guideline for the testing of chemicals-Soil microorganisms: carbon transformation test[R]. OECD, Paris.

OECD. 2000b. OECD guideline for the testing of chemicals-Soil microorganisms: nitrogen transformation test[R]. OECD, Paris.

RABØLLE M, SPLIID N H. 2006. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil [J]. *Chemosphere*, 40:715-722.

SENGELOV G, AGERSØ Y, HALLING-SØRENSEN B, et al. 2003. Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry [J]. *Environment International*, 28: 587-595.

THIELE-BRUHN S AND, BECH I. 2005. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass [J]. *Chemosphere*, 59:457-465.

THIELE-BRUHN S, AEIBICKE T, SCHULTEN H R et al. 2004. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions[J]. *Journal of Environmental Quality*, 33: 1331-1342.

VACLAVIK E, HALLING-SØRENSEN B, INGERSLEV F. 2004. Evaluation of manometric respiration tests to assess the effects of veterinary antibiotics in soil [J]. *Chemosphere*, 56: 667-676.

ZIELEZNY Y, GROENEWEG J, VEREECKEN H, et al. 2006. Impact of sulfadiazine and chlorotetracycline on soil bacterial community

structure and respiratory activity [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 2372-2380.

刘锋, 应光国, 周启星, 等. 2009. 抗生素类药物对土壤微生物呼吸的影响[J]. *环境科学*, 30(5): 1280-1285.

王冉, 刘铁锋, 王恬. 2006. 抗生素在环境中的转归及其生态毒性[J]. *生*

态学报, 26(1): 265-269.

张劲强, 董元华. 2007. 阳离子强度和阳离子类型对诺氟沙星土壤吸附的影响[J]. *环境科学*, 28(10): 2383-2388.

张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 2005. 规模化养殖畜禽粪主要有毒成分测定分析研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 11(6): 822-829.

Effects of three types of antibiotics on soil respiration and nitrification

YANG Jifeng^{1,2,3}, YING Guangguo^{1*}, LAI Huajie¹, ZHAO Jianliang¹, LIU Shan¹, ZHOU Lijun¹

1. Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. Chemistry and Chemical Engineering College, Hunan University of Arts and Science, Changde 41500, China;

3. Chemistry and Chemical Engineering College, Hunan University, Changsha 410082, China

Abstract: Antibiotics are widely administrated in human and livestock to treat diseases and most of them were excreted as mother molecules. Subsequently, antibiotic residues can enter into environment through the route of biosolid application in field, wastewater irrigation and others, which might pose a potential threaten to terrestrial eco-environment. For assessing the role of different types of antibiotics in influencing soil microbial activity and function, this paper investigated the effects of antibiotics on soil respiration and nitrification using sulfadiazine, oxytetracycline and norfloxacin as target chemicals and OECD standard method. In the respiration experiments, both sulfadiazine and oxytetracycline inhibited soil microbial respiration at the early stage of experiments, but the inhibiting rate for sulfadiazine was stronger than oxytetracycline. The highest inhibiting rates for sulfadiazine and oxytetracycline were 76.8% and 20.7%. The stimulation effects of sulfadiazine and oxytetracycline were found at the later stage of soil respiration experiments and the highest activating rates were 343% and 218%, respectively. However, the stimulation effects became weaker as time elapse. At the early stage of experiment, norfloxacin stimulated the microbial respiration with the highest rate of 15.4% and the highest inhibiting rate of 21.9% was found at the later stage of experiment. In the nitrification experiments, sulfadiazine inhibited microbial nitrification for soil B a, not for soil A. The strongest inhibition rate was 20% for sulfadiazine in soil B. On the contrary, the inhibition effect of nitrification was found for oxytetracycline and norfloxacin in soil A and the inhibiting rates were 50% and 19%, respectively. The difference in effects of antibiotics on nitrification is contributed to soil pH and antibacterial spectrum of antibiotics. In conclusion, the results of soil microbial activity and nitro-transformation function is different for three types of antibiotics, which rise from antibiotics types, soil types and antibiotics concentration. Therefore, the risk should be assessed when antibiotics enter into terrestrial environment as manure form.

Key words: antibiotics; soil; respiration; nitrification