

3 种兽药对土壤微生物呼吸的影响

刁晓平^{1,3} 孙英健² 孙振钧¹ 沈建忠²

(1. 中国农业大学 资源与环境学院, 北京 100094; 2. 中国农业大学 动物医学院, 北京 100094;
3. 海南大学 生命科学与农学院, 海口 570228)

摘要 为给兽药的环境安全评价提供依据,采用直接吸收法(密闭法)测定了阿维菌素、安普霉素和磺胺二甲基嘧啶对不同类型土壤中微生物呼吸活动的影响,并进行了安全评价。结果表明:从暴露的中期开始,在有机质含量丰富的砂壤土中添加药物后,土壤 CO₂ 的平均释放量比对照增加,表明药物对微生物呼吸有促进作用;在有机质较少的壤土中,3 种药物在暴露的前期和中期对土壤微生物呼吸有抑制作用,并随含量的增加而增大;高含量的阿维菌素、安普霉素、磺胺二甲基嘧啶组(500 mg/kg)染毒后 51 h 之内,土壤中 CO₂ 的平均释放量比对照组分别减少了 43%、62% 和 46%,说明 3 种药物对有机质较少的壤土中微生物的呼吸表现出明显的抑制作用。参考农药的安全性评价标准,结合药物在环境中的实际含量,可以得出结论:阿维菌素、安普霉素、磺胺二甲基嘧啶 3 种兽药对土壤环境中的微生物具有一定的毒性作用。

关键词 阿维菌素; 安普霉素; 磺胺二甲基嘧啶; 微生物活动; 土壤呼吸

中图分类号 S 154.3

文章编号 1007-4333(2006)02-0039-05

文献标识码 A

Effects of three kinds of veterinary drugs on microbe respiration in different soils

Diao Xiaoping^{1,3}, Sun Yinjian², Sun Zhenjun¹, Shen Jianzhong²

(1. College of Resources and Environmental Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China;
2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China;
3. Life Science and Agricultural College, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract The effects of different concentrations of Avermectin, Apramysin and Sulfamethazine on microbe respiration in different soils were studied. And the safety assessment of three kinds of veterinary medicines was conducted. The results showed that these effects varied with soils. It was noticed that to higher soil organic matter corresponded negligible effects of drugs on soil respiration. In the sand loamy soil with higher organic matter, avermectin, apramysin and sulfamethazine could all stimulate soil respiration during early and middle period of exposure. The CO₂ emissions increased following the exposure of three drugs at different concentrations. The activity of microbe respiration in loamy soil with low organic matter was inhibited after 51 hours exposure to the three veterinary drugs. Compared with the control group, the CO₂ emissions were reduced of 43%, 62% and 46% respectively following the exposure of avermectin, apramysin and sulfamethazine at the highest concentration group (500mg/kg dw). This may be related to the interaction between drugs and microbial activity in the soil. According to the standard of pesticide safety evaluation, the three drugs used contained were less poisonous to soil microbes.

Key words Avermectin; Apramysin; sulfamethazine; microbial activity; soil respiration

兽药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,并随食物链影响生态系统,因此药物对环境生物的潜在毒性

已成为近年国际研究的热点^[1-3]。土壤微生物的呼吸作用反映了土壤微生物的总活性,是评价化学物质对生态环境安全性的重要指标^[4-5]。

收稿日期: 2005-05-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30130140); 海南省教育厅科学研究基金资助项目(Hjkj200409)

作者简介: 刁晓平,教授,主要从事畜牧生态和生态毒理研究, E-mail: diaoxip@263.net; 孙振钧,教授,通讯作者,主要从事环境生物与生态毒理研究, E-mail: sun108@cau.edu.cn

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^[8]。土霉素和太乐菌素对土壤微生物呼吸有一定的抑制作用,土壤中药物的含量可以达到 mg/kg 级水平^[9]。当土壤中阿维菌素的含量达到 125 mg/kg 时,药物在 48 h 内对土壤中细菌、真菌等的数量有一定的抑制作用^[10]。

阿维菌素是目前广泛使用的畜禽体内外抗寄生虫药物,也是农业上新兴的高效杀虫剂^[11],对牛羊的使用量为 200 μg/kg。安普霉素、磺胺二甲嘧啶由于高效和广谱的抗菌特性而广泛用于畜牧业;安普霉素作为预混剂,添加比例为 0.12%,临床应用的推荐剂量为 12.5~25.0 mg/kg^[12]。以上 3 种药使用量大,且大多以原药的形式排出体外进入土壤环境,有可能对土壤生物造成危害。尽管在进入市场以前,这些药物已按有关规定对其进行了相关的毒性试验,但对土壤生态系统的生态毒理效应仍应关注^[1,13-14]。关于以上 3 种药物对土壤微生物呼吸的影响未见文献报道。本文旨在研究其对土壤生态环境的生态毒理学效应,为兽药的环境风险评价和安全使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

试验所用的土壤分别采自长春和成都,分别为壤土和砂壤土 2 种典型的土壤类型。供试土壤分别取自 5~20 cm 耕作层。试验时将土风干、过 2 mm 筛。土壤的理化特性采用不同的方法测定(表 1)^[12]。

表 1 测试土壤的理化特性

| 样品来源地 | 土壤类别 | 有机质/(g/kg) | pH | 全氮/ | 速效磷/ | 颗粒度 <0.01 mm |
|-------|------|------------|------|--------|--------|--------------|
| | | | | (mg/g) | (mg/g) | |
| 长春 | 砂壤土 | 61.36 | 6.98 | 1.652 | 33.65 | 19.61 |
| 成都 | 壤土 | 29.94 | 6.90 | 1.752 | 18.06 | 21.08 |

1.2 供试药物

阿维菌素(Avermectine)为华北制药厂提供,纯度 99.9%;安普霉素(Apramycin)为河南鸿天威药业公司提供,纯度 99.9%;磺胺二甲嘧啶(sulfamethaoid)为北京制药二厂生产,纯度 99%;NaOH

(分析纯);HCl(分析纯);氯化钡(BaCl·H₂O,分析纯);丙酮(分析纯),均为北京试剂厂提供。

1.3 试验方法

试验分为 4 个组:对照组、药物 1 组(土壤中药物的含量为 10 mg/kg,干重)、药物 2 组(土壤中药物的含量为 100 mg/kg,干重)、药物 3 组(土壤中药物的含量为 500 mg/kg,干重)。

采用直接吸收法(密闭法)滴定测定^[15]。取 50 g 供试土壤,加入 1 g 葡萄糖,混匀,放于 100 mL 高型烧杯中,加少量水湿润土壤。将小烧杯放入容积为 2.5 L 的可密闭密容器中,在(25±1) 恒温培养箱中培养 7 d,然后加入一定量的药物溶液,不同的药物用不同的溶液稀释,安普霉素用 2 mL 去离子水稀释;阿维菌素和磺胺二甲嘧啶分别用 2 mL 丙酮稀释,并与土壤充分混匀,然后再加入 3 mL 去离子水使土壤保持一定的含水量。将与药物混匀的土壤重新放入换过气的可密闭密容器中。同时放入盛有 30 mL 的 0.2 mol 标准 NaOH 的小烧杯,密封瓶口后置恒温培养箱中继续培养。于 5、15、27、39、51 和 63 h 定期取出小烧杯,每瓶加数滴酚酞指示剂,立即用 0.2 mol HCl 滴定剩余的 NaOH。同时换进盛有新鲜 NaOH 液的小烧杯,继续培养,按上述步骤进行测定,各处理重复 3 次。

由于各处理中有等量的氢氧化钠用于吸收土壤呼吸时释放的二氧化碳,可求出滴定对照与各处理组所消耗的盐酸量之差,按每毫升消耗氢氧化钠相当于 2.2 mg 二氧化碳计算土壤的总呼吸作用以及土壤真菌呼吸的二氧化碳释放量。

2 结果与分析

2.1 阿维菌素对土壤呼吸的影响

在砂壤土中,添加药物 39 h 后,不同药物组土壤中 CO₂ 的释放量逐渐增加,甚至超过了对照组,在药物含量为 100 mg/kg 组别中,阿维菌素对土壤中 CO₂ 释放别有明显的刺激作用(表 2)。

阿维菌素对壤土中微生物呼吸有明显的抑制作用。51 h 前,3 组添加不同剂量阿维菌素的土壤中 CO₂ 平均释放量为 23.6 mL/100 g,低于对照组(42.2 mL/100 g),经显著性分析,差异显著。与对照组相比,最高药物含量组(500 mg/kg)土壤中 CO₂ 的释放量减少了 43%。结果表明阿维菌素对壤土中 CO₂ 释放量具有明显的抑制作用。

表 2 阿维菌素对土壤 CO₂ 释放量的影响Table 2 Effect of Avermectine on CO₂ mission

mg/100 g

| 土壤类别 | 药物含量/ (mg/kg) | 药物处理时间/h | | | | | |
|------|------------------|----------|---------|---------|---------|---------|-----------|
| | | 5 | 15 | 27 | 39 | 51 | 63 |
| 砂壤土 | 10 | 12.21 a | 34.83 a | 55.47 a | 72.13 a | 83.44 a | 130.82 b |
| | 100 | 12.32 a | 37.38 a | 62.05 a | 90.05 b | 96.32 b | 134.18 a |
| | 500 | 12.88 a | 36.85 a | 58.91 a | 78.40 a | 86.13 a | 127.34 ab |
| | CK | 10.53 a | 36.18 a | 60.03 a | 68.10 a | 71.23 c | 120.51 b |
| 壤土 | 10 | 21.50 a | 20.50 a | 20.38 a | 28.00 a | 38.86 a | 84.36 a |
| | 100 | 17.59 a | 24.75 b | 21.19 a | 23.30 a | 17.70 b | 58.46 b |
| | 500 | 17.03 a | 25.87 b | 24.98 a | 27.78 a | 25.09 c | 48.38 b |
| | CK | 29.34 b | 40.21 c | 44.02 b | 51.52 b | 46.03 d | 38.11 c |

注: 同一列字母相同者为差异不显著 ($P > 0.05$), 字母不相同者为差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

2.2 安普霉素对土壤呼吸的影响

在砂壤土中, 添加药物 21 ~ 51 h, 土壤 CO₂ 的释放量都高于对照, 差异显著, 说明在污染的中后期, 砂壤土中加入一定量的安普霉素能刺激土壤呼吸。在壤土中, 添加药物前 5 ~ 39 h, 安普霉素对土壤 CO₂ 的释放量有抑制。从 51 h 开始, 药物组土壤

CO₂ 的释放量渐渐回升, 到 63 h, 不同药物组土壤 CO₂ 的释放量均高于对照组。结果表明: 在壤土中, 高含量药物组 (500 mg/kg) 在 51 h 前对土壤 CO₂ 的释放量具有明显的抑制作用, 与对照组相比, 土壤 CO₂ 的释放量减少了 62% (表 3)。

表 3 安普霉素对土壤 CO₂ 释放量的影响Table 3 Effect of Apramycin on CO₂ mission

mg/100 g

| 土壤类别 | 药物含量/ (mg/kg) | 药物处理时间/h | | | | | |
|------|------------------|----------|---------|---------|----------|---------|----------|
| | | 5 | 15 | 27 | 39 | 51 | 63 |
| 砂壤土 | 10 | 8.29 a | 35.39 a | 69.01 a | 96.43 a | 89.71 a | 125.10 a |
| | 100 | 11.65 a | 39.87 a | 79.18 b | 103.71 b | 87.36 a | 124.43 a |
| | 500 | 12.77 a | 40.43 a | 73.36 a | 107.74 b | 92.74 a | 131.49 a |
| | CK | 10.53 a | 36.18 a | 60.03 c | 68.010 c | 71.23 b | 120.51 a |
| 壤土 | 10 | 15.68 a | 25.98 a | 30.46 a | 32.03 a | 73.14 a | 95.98 a |
| | 100 | 23.75 b | 44.80 b | 42.56 b | 37.18 a | 59.47 b | 71.46 b |
| | 500 | 14.88 a | 19.15 a | 17.58 c | 14.45 b | 30.58 c | 84.34 a |
| | CK | 29.34 b | 40.21 b | 44.02 b | 51.52 c | 46.03 d | 38.11 c |

2.3 磺胺二甲基嘧啶对土壤呼吸的影响

磺胺二甲基嘧啶对土壤 CO₂ 释放量的影响测定结果见表 4。添加药物前 27 h, 药物对砂壤土中 CO₂ 的释放量没有影响; 从添加药物 39 h 开始, 加入不同含量磺胺二甲基嘧啶的砂壤土中, CO₂ 的释放量不但没有受到抑制, 反而有增强的现象出现。对照组 39 ~ 63 h 间, 土壤微生物 CO₂ 的平均释放量为 86.2 mL/100 g, 而当土壤中药量为 10、100 和 500 mg/kg 时, 39 ~ 63 h 间土壤微生物 CO₂ 的平

均释放量则分别到达 95.6、98.2 和 98.7 mL/100 g。在壤土中, 药物对土壤微生物呼吸的影响却不一样。高含量药物组 (500 mg/kg) 51 h 前 CO₂ 的平均释放量 (22.6 mL/100 g) 明显低于对照组 (42.2 mL/100 g)。土壤微生物 CO₂ 的释放量与对照组相比, 减少了 46%, 表明土壤的呼吸活动受到明显的抑制。总体上看, 所测土壤中低含量的药物对壤土微生物的呼吸活动没有明显的影响。

表4 磺胺二甲基嘧啶对土壤 CO₂ 释放量的影响Table 4 Effect of Sulfamehtaoid on CO₂ mission

mg/100 g

| 土壤类别 | 药物含量/ (mg/kg) | 药物处理时间/h | | | | | |
|------|------------------|----------|---------|---------|---------|---------|----------|
| | | 5 | 15 | 27 | 39 | 51 | 63 |
| 砂壤土 | 10 | 12.77 a | 32.19 a | 50.51 a | 73.42 a | 88.37 a | 124.96 a |
| | 100 | 10.64 a | 32.26 a | 54.66 a | 81.42 b | 90.72 a | 122.53 a |
| | 500 | 10.75 a | 37.86 a | 55.78 a | 84.37 b | 95.49 b | 116.37 a |
| | CK | 10.53 a | 36.18 a | 60.03 a | 68.10 a | 71.23 b | 120.51 a |
| 壤土 | 10 | 29.24 a | 31.14 a | 35.73 a | 35.73 a | 41.44 a | 62.05 a |
| | 100 | 28.58 a | 32.86 a | 35.39 a | 43.12 b | 44.58 a | 55.44 b |
| | 500 | 16.35 b | 22.06 b | 22.29 b | 25.09 c | 27.33 b | 70.78 c |
| | CK | 29.34 a | 40.21 a | 44.02 a | 51.52 d | 46.03 a | 38.11 d |

2.4 3种药物对土壤微生物呼吸的影响评价

目前一般采用3种方法来评价农药的安全性^[16-17]。分别是:安全系数法、田间用量等级划分法和危害系数法。参照农药对土壤微生物呼吸影响评价的方法,利用田间用量等级划分法来评价药物的毒性。将土壤中药物含量为1 mg/kg,在试验期间对土壤呼吸的抑制强度达50%的药物定为高毒级;土壤中药物含量为1~10 mg/kg,抑制强度达50%的药物定为中毒级;土壤中药物含量>10 mg/kg,抑制强度为50%的药物定为低毒级。在我们所测定的3种药物中,土壤中添加药物的最大量为500 mg/kg, dw,而实际上药物在土壤环境中很难达到如此高的水平,一般在5~15 mg/kg之间^[18]。因此根据以上毒性等级划分标准,结合药物在土壤环境中的参考含量,供试的阿维菌素、安普霉素、磺胺二甲基嘧啶3种兽药对土壤微生物均有一定的毒性作用。

3 讨论

1) 土壤微生物对土壤中残留的抗菌素的敏感性、耐受性有很大的地区差别,加之不同的药物由于其化学结构和作用机理的不同,因此对土壤中微生物呼吸活动的影响也表现各异。本试验所用的土壤分别来源于东北的长春和西南的成都2个不同的地域,具有一定的区域代表性,土壤类型分别为砂壤土和壤土。其中以砂壤土中有机质含量较高,土壤肥力较高;壤土有机质含量较低,土质较为贫瘠。

2) 3种药物对土壤微生物的呼吸活动均有一定程度的影响,但在不同的土壤中表现不一。在砂壤土中,由于土壤的有机质含量较高,微生物的种群类

型较多,数量较大。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,而其他非靶土壤微生物对药物又具有一定的耐受性,因此就可能出现药物组中,土壤中CO₂的释放量增加的现象。而在壤土中,土壤有机质含量低,微生物的种群类别和数量也较小,药物对“靶微生物”的作用机率就增大,表现为对土壤微生物的呼吸有明显的抑制作用。这种影响表现出的非持续性,可能是在一定含量下,药物在影响微生物活动的同时,也能被相应的微生物分解。但随着土壤微生物耐受性的增加,土壤中会产生抗性种群,从而使土壤的呼吸逐渐恢复正常。关于不同土壤中微生物的种类和它们对待测药物的敏感性实验仍需要进一步研究。不同的药物在不同土壤中对土壤微生物呼吸的影响表现出来的差异,可能与土壤的理化性质、药物的作用机制和不同土壤中的微生物种群结构的差异有关,它反映了不同土壤中微生物种群与药物间相互作用的动态过程。关于它们间的作用机制还有待于进一步研究。

3) 兽药和饲料添加剂在保障动物健康,提高动物生产性能上起到重要的作用。但它们的使用所带来的负面影响也不容忽视。兽药和饲料添加剂的大量使用,带来了两方面的负面影响:一是大量外源性化学物(xenobiotics)进入畜产品中,使动物性食品中药物的残留越来越严重,对人类的健康和公共卫生构成威胁。另一方面各类大型养殖场的动物使用兽药和添加剂后,大部分以原药和代谢产物的形式经动物的粪便和尿液进入生态环境中,对土壤环境、表层水体等生态环境带来不良影响,并通过食物链对生态环境产生毒害作用,影响其中的植物、动物和微

生物的正常生命活动,最终将影响人类的健康。关于药物在环境中的转归和对环境生物的潜在毒性,我们必须给予高度的重视。

4 结 论

在有机质含量较高的砂壤土中,药物阿维菌素、安普霉素、磺胺二甲基嘧啶对微生物的呼吸活动表现出刺激作用。在有机质含量较低的壤土中,高含量的 3 种测试药物对壤土中微生物呼吸有明显的抑制作用,但这种抑制作用是非持续性的,在 51 h 前表现较为明显。参照农药的安全性评介方法,结合药物在环境中实际含量,可以说明阿维菌素、安普霉素、磺胺二甲基嘧啶 3 种兽药对土壤环境微生物的影响均有一定毒性作用。

参 考 文 献

- [1] Jorgensen S E, Halling-Sorensen B. Drugs in the environment[J]. *Chemosphere*, 2000, 40:691-699
- [2] Jongdloed A W, Lenis N P. Environmental concerns about animal manure [J]. *J Anim Sci*, 1998, 76:2641-2648
- [3] Christensen F M. Pharmaceutical in the environment-a human risk [J]. *Regulatory and Pharmacology*, 1998, 28:212-221
- [4] 邱江平. 蚯蚓在环境保护中的应用-生态毒理学[J]. *上海农学院学报*, 1999, 17(4):301-308
- [5] Wardle D A, Parkinson D. Effect of three Herbicides on Soil Microbial Biomass and Activity[J]. *Plant and Soil*, 1990, 122:21-28
- [6] 王静, 乔雄梧, 朱鲁生, 等. 农药对土壤微生物的影响: 土壤呼吸[J]. *应用与环境生物学报*, 1999, 5(suppl): 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, et al. Reduction of microbial and faunal groups following application of streptomycin and captan in Georgia no-tillage agroecosystem[J]. *Pedobiologia*, 1991, 35:297-304
- [9] Lahr J, Moreau C, Faber J H. cDo veterinary pharmaceuticals affect soil function at environmentally relevant concentrations? [M]. *Proceedings of SETAC Europe 15th annual meeting*, 2005, 312
- [10] 张跃华, 罗志文. 阿维菌素对土壤微生物活性的影响[J]. *佳木斯大学学报*, 2002, 20(1):49-51
- [11] 扈洪波, 朱蓓蕾, 李俊锁. 阿维菌素类药物的研究进展[J]. *畜牧兽医学报*, 2000, 31(6):520-529
- [12] 胡新岗, 黄银云. 新型饲用抗生素—安普霉素的应用[J]. *畜牧与兽医*, 2002, 34(6):30-32
- [13] 刁晓平, 孙振钧, 沈建忠. 兽药的生态毒理及其对环境的影响研究进展[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(2):321-325
- [14] Halling-Sorensen B, Nielsen N, Lansky P F, et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceuticals in the environment-a review[J]. *Chemosphere*, 1998, 36:357-394
- [15] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1978
- [16] 国家环保总局. 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
- [17] 吴春先, 吕潇, 幕立义, 等. 农药 Ethoprophos 对三种土壤中微生物呼吸的影响[J]. *农药科学与管理*, 2002, 23(4):23-25
- [18] Rombke J, Knacker T, Teichmann H. Ecotoxicological evaluation of pharmaceuticals[M]. Kummerer K, ed. *Pharmaceuticals in the Environment*. New York:Spring-Verlag, 2001:123-141