

袁德桢. 土壤中抗生素残留对土壤微生物活性与功能的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(8): 319–321.

土壤中抗生素残留对土壤微生物活性与功能的影响

袁德桢

(重庆三峡职业学院农林科技系, 重庆 404000)

摘要:通过研究抗生素残留对土壤呼吸以及氨化的作用,以探讨抗生素对土壤微生物活性与功能的影响。结果表明,3 种抗生素残留对土壤呼吸有不同程度的抑制作用,最大抑制率为 15%,并且随着时间延长和浓度升高,呼吸抑制效果更加明显。抗生素残留对土壤氨化起抑制作用,土壤铵态氮含量呈先增加后降低再增加的趋势,处理 3 d 后土壤铵态氮含量最高,抑制率在 90%~99%。由此可见,土壤抗生素残留对土壤微生物活性功能有很大影响,对土壤抗生素的生态毒理性研究很有必要。

关键词:抗生素;土壤;微生物活性;呼吸;氨化

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0319-03

抗生素是世界上用量最大、使用最广泛的药物之一。全球抗生素年均使用总量为 10 万~20 万 t,我国每年有成千上万吨的抗生素类药物被用于畜禽养殖。含有残留兽药的粪便作为有机肥施入农田,造成土壤污染,对人类健康和生态系统产生潜在危害。养殖业使用的主要兽药种类为抗生素类药物,且用量逐年增加,目前土壤中兽药残留浓度范围为 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 级到 g/kg 级。本试验在总结国内外相关研究的基础上,重点研究抗生素残留对土壤微生物群落功能和结构的影响^[1]。

1 材料与方法

1.1 抗生素标准样品

本试验主要针对 4 种抗生素进行研究,分别是四环素类四环素(tetracycline,纯度为 98%)、金霉素(CTC,纯度为

95%),喹诺酮类诺氟沙星(BR,纯度为 99%),以上均产自上海卒瑞生物科技有限公司;喹诺酮类环丙沙星(Ciprofloxacin hydrochloride,98%),产自阿拉丁试剂有限公司。

1.2 抗生素标准溶液配制

2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液:取 100 mg 抗生素加入蒸馏水中,并定容至 50 mL。取 1.25 mL 标准溶液定容至 25 mL,配制浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{g}$;量取 6.25 mL 标准溶液定容至 25 mL,配制浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{g}$;取 12.5 mL 标准溶液定容至 25 mL,配制浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

1.3 氨化培养基的配制

(1)液体培养基:取磷酸氢二钾 0.5 g,氯化钠 1 g,七水合硫酸镁 0.25 g,硫酸亚铁 0.2 g,葡萄糖 2.5 g,硫酸铵 1.0 g,加入水中,并定容至 500 mL,调节 pH 值至 7.2~7.4,在灭菌锅中 120 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 30 min。(2)0.2% 蛋白胨:将 1 g 蛋白胨粉末加入水中,并定容至 500 mL,在灭菌锅中 120 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 30 min。

1.4 抗生素污染土壤配制与模拟

1.4.1 供试土壤及前处理

试验土壤采集于重庆三峡职业

收稿日期:2013-10-22

作者简介:袁德桢(1968—),男,重庆人,副教授,从事高职高专教育管理与教学研究。E-mail:zhichengzhijia@139.com。

座 100 m^2 的大棚数据采集、补光、照明用等用途。多余电量也可以并网卖给国家。

5 结论

设计并实现了光伏农业环境检测与调控装置,开发了上位机软件,并对光伏与 LED 等的匹配进行评估,记录了影响环境因素的各个参数并作了分析。

本装置适合在偏远地区,特别是无市电的大棚和温室,无法进行环境参数测量和控制的地方使用。

根据该装置测得的数据,合理调控环境的各个参数,充分利用太阳能光伏优势,能够提高农作物产量和品质。

参考文献:

- [1]盛 绛,滕国荣,严建华,等. 太阳能光伏水泵在农业方面的应用[J]. 农机化研究,2008(12):198-200.
- [2]彭梅牙. 新余市大力发展光伏农业[J]. 南方农机,2012(2):4-6.

- [3]魏海峰,李萍萍,包晓明. 基于同步整流的光伏水泵数字控制器[J]. 农业机械学报,2009,40(11):94-98.
- [4]赵春江,杨金焕,陈中华,等. 太阳能光伏发电应用的现状及发展[J]. 节能技术,2007,25(5):461-465.
- [5]张仁贡. 农村水能与太阳能混合发电系统的设计与应用[J]. 农业工程学报,2012,28(14):190-195.
- [6]Neelakanta,Perambur S,Harshad D. Robust factory wireless communications:A performance appraisal of the blue tooth and the ZigBee collocated on an industrial floor[J]. IEEE Computer Society,2003(3):2381-2386.
- [7]杜尚丰,李迎霞,马承伟,等. 中国温室环境控制硬件系统研究进展[J]. 农业工程学报,2004,20(1):7-12.
- [8]王忠义,陈端生,黄 岚. 温室植物生理指标监测及应用研究[J]. 农业工程学报,2000,16(2):101-104.
- [9]陈端生. 中国节能型日光温室建筑与环境研究进展[J]. 农业工程学报,1994,9(1):123-129.
- [10]王松涛,冯广和,陈端生,等. 论我国设施园艺建设的宏观管理[J]. 农业工程学报,1999,15(1):159-164.

学院校园内,将采集后的土壤过 20 目筛,去除杂质,并风干 1 d,常温保存。

1.4.2 土壤含水率的选择与确定 经测定原土壤含水率约为 10%,取土样 80 g 即含 8 g 水、72 g 干土。在 80 g 土壤中分别加入 10、15、21、29 mL 水,使其含水率分别为 15%、20%、30%、40%。

1.5 土壤呼吸作用的测定

测定土壤微生物呼吸最常用的方法是直接吸收法,具体的试验步骤为:称 50 g 的供试土壤放在 100 mL 的广口瓶中,共 20 份,然后向土壤中添加 4 种抗生素,分别是四环素、金霉素、诺氟沙星和环丙沙星,并且保证 4 种抗生素的浓度均为 0、1.5、25、50 mg/kg 等 5 个处理,其中 0 mg/kg 处理作为对照,同时 5 个处理均设 1 个重复。同时将盛放有 5 mL 的 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液的小玻璃瓶放在一个密闭容器的底部,然后将广口玻璃瓶进行密封。将密封好的广口玻璃瓶放入恒温为 25 ℃ 的人工培养箱中 1、3、5、7、9、11 d,在盛有氢氧化钠的高型烧杯中加入 1 mL 的 1 mol/L 氯化钡溶液,另外加入 2~3 滴酚酞试剂,以起到指示剂的作用,运用 0.05 mol/L 盐酸滴定来观察酚酞的变化,并记录盐酸的消耗量,同时换盛有新鲜氢氧化钠溶液的小玻璃瓶^[2]。

1.6 土壤氨化作用的测定

测定土壤氨化作用的具体步骤为:先取 5 支 500 mL 的三角瓶,称取 100 g 的供试土壤分别放入每支三角瓶中,然后加入 5 mL 用于灭菌的浓度为 0.2% 蛋白胨以及 2 mL 的氨化菌液体培养基,并分别加入四环素、金霉素、诺氟沙星,使其终浓度分别为 0 (CK)、1.5、10、20 $\mu\text{g/g}$ 土,最终土:水=3:1。把上述 5 支三角瓶均塞上棉塞后放入恒温为 28 ℃ 的培养箱。然后进行康维皿扩散试验:首先从三角瓶中称取土壤 20 g,向土壤中加入 80 mL 的 1 mol/L 氯化钾溶液,将加入溶液的土壤振荡浸提 1 h 后进行过滤,过滤后吸取滤液 4 mL 放在康维皿外室,在中心小室加入 0.1 mol/L 硫酸 2 mL。盖上皿盖,留 1 个小孔,然后快速用滴管从小孔中加入 40% 氢氧化钠溶液 1 mL。盖紧瓶盖后,将康维皿进行摇动,然后放入温度为 40 ℃ 的恒温箱 4 h,将 10 mL 的蒸馏水滴入中心小室,然后分 4 次将溶液转移到 50 mL 的容量瓶中。钠氏试剂显色的方法与铵态氮标准曲线的绘制有异曲同工之妙,对照标准曲线每 3 d 测定 1 次,一共需要测定 6 次^[3]。

1.7 铵态氮标准曲线的绘制方法

取 6 支 25 mL 的容量瓶,分别放入 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 的铵态氮标准溶液,然后以蒸馏水进行稀释,稀释到 10 mL,在溶液中再分别加入 0.8 mL 的钠氏试剂并将溶液摇匀。向每个容量瓶中缓慢加入 4 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液,待钠氏试剂显色后稀释至刻度。10 min 过后,在分光光度计上波长 460 nm 的地方测定其吸光度。在绘制曲线时以铵态氮浓度为纵坐标,以吸光度为横坐标。

2 结果与分析

2.1 抗生素残留对土壤呼吸作用的影响

由图 1 可知,4 种不同浓度的四环素残留对土壤呼吸均表现为抑制作用,并且抗生素残留浓度越大,抑制水平相对越高。同时,四环素残留在土壤中总体表现前 9 d 抑制能力较

弱,9 d 后抑制能力较强,11 d 后对土壤呼吸作用的抑制作用最强,抑制率在 5%~15%。

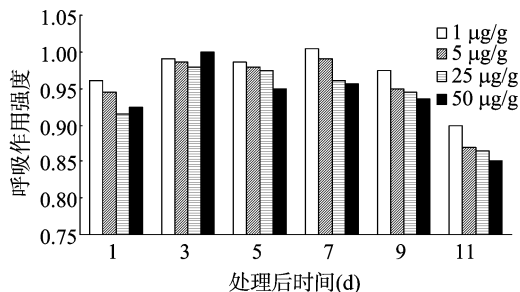


图1 四环素残留对土壤呼吸作用的影响

由图 2 可知,高浓度(25、50 $\mu\text{g/g}$)金霉素残留在土壤处理 1 d 后对土壤有刺激作用,而后几天均抑制土壤呼吸;低浓度(1.5 $\mu\text{g/g}$)金霉素残留整个过程都表现出抑制土壤呼吸的作用,在处理 5 d 后土壤呼吸抑制最为明显。金霉素残留对土壤呼吸作用表现为先刺激后抑制,抑制水平略低,抑制率在 5% 左右。

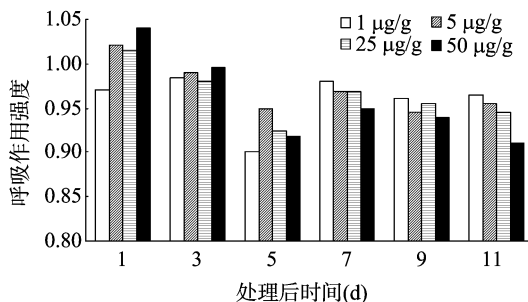


图2 金霉素残留对土壤呼吸作用的影响

由图 3 可知,低浓度(1.5 $\mu\text{g/g}$)诺氟沙星在处理 1 d 后对土壤呼吸有促进作用,所有浓度在 3 d 及以后均对土壤呼吸呈抑制作用,而且土壤抗生素残留浓度越大其抑制程度越大。在整个试验过程中,土壤呼吸作用的抑制效果随时间的推进而更加明显。在整个试验结束前(11 d 内),4 种浓度的土壤呼吸抑制率在 5%~10%。

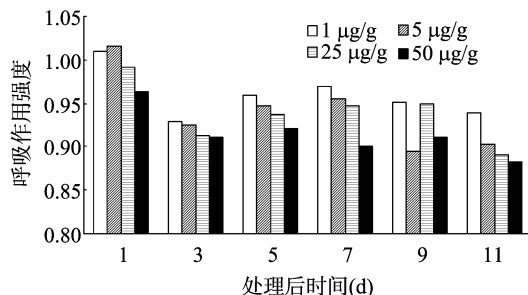


图3 诺氟沙星残留对土壤呼吸作用的影响

由图 4 可知,1 $\mu\text{g/g}$ 的环丙沙星在处理 7 d 后对土壤呼吸作用起到微弱的促进作用,但在其他浓度时均表现为抑制作用;25、50 $\mu\text{g/g}$ 环丙沙星在处理 7 d 后对土壤呼吸有较强的抑制作用。另外,在前 5 d 不同抗生素残留浓度对土壤呼吸作用的抑制效果差别不大,而 5 d 后 4 种抗生素残留浓度对土壤的呼吸作用差别很明显。并且随着试验过程的推进,4 种抗生素浓度的抑制能力越来越强,最强抑制率在 10%~

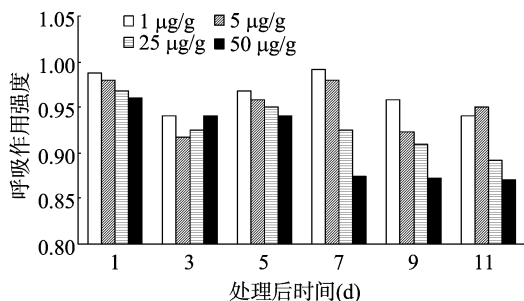


图4 环丙沙星残留对土壤呼吸作用的影响

15%之间。

2.2 抗生素残留对土壤氨化作用的影响

如图5所示,处理3 d时土壤中铵态氮含量达到最大值,3 d以后逐渐降低,不同浓度四环素对土壤氨化作用在0~9 d内差异较大,0~9 d内所有浓度的土壤中铵态氮含量均高于空白样,12~15 d内1、5、10 μg/g土壤中铵态氮含量均低于空白样,而20 μg/g土壤中铵态氮含量高于空白样,说明较低浓度(1、5、10 μg/g)四环素对土壤氨化有抑制作用,较高浓度(20 μg/g)四环素对土壤氨化作用有促进作用。

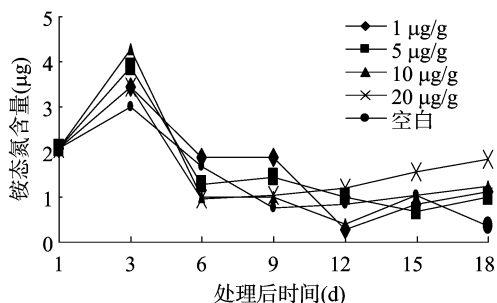


图5 四环素残留对土壤氨化作用的影响

如图6所示,处理3 d时土壤中铵态氮含量达到最大值,3 d以后逐渐降低,不同浓度四环素对土壤氨化作用在0~6 d内差异不大,0~3 d内所有浓度的土壤中铵态氮含量均高于空白样,6 d以后所有浓度的土壤中铵态氮含量趋于一致。12~15 d内所有浓度抗生素的土壤中铵态氮含量均低于空白样,体现出对氨化的抑制作用。

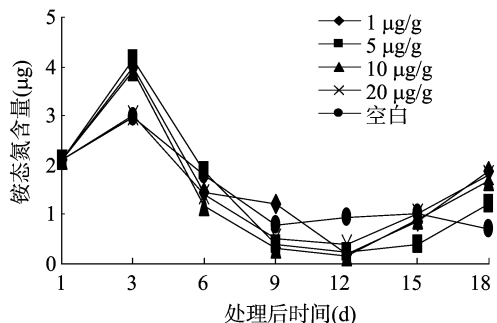


图6 金霉素残留对土壤氨化作用的影响

如图7所示,处理3 d时土壤中铵态氮含量达到最大值,3 d以后逐渐降低,不同浓度诺氟沙星对土壤氨化作用在0~6 d内差异不大,0~3 d内所有浓度的土壤中铵态氮含量均

高于空白样。6~18 d内5、10、20 μg/g土壤中铵态氮含量均高于空白样,体现出对氨化的促进作用。

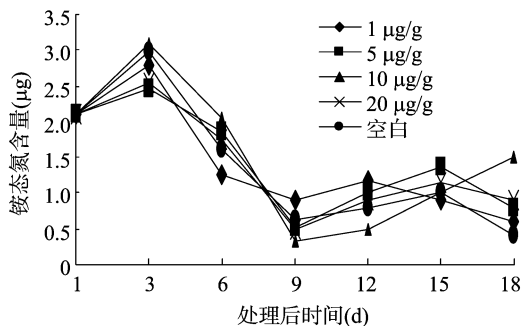


图7 诺氟沙星残留对土壤氨化作用的影响

3 结论

4种不同浓度的抗生素残留对土壤呼吸作用基本表现出抑制作用,并且抗生素残留浓度越大,抑制水平相对越高。同时,抗生素残留在土壤中总体表现前7 d抑制能力较弱,7 d后土壤呼吸抑制能力较强。并且土壤中抗生素添加浓度越大,其对土壤呼吸抑制作用就越强,抑制效果越明显。其中,四环素对土壤呼吸主要起到抑制的作用;金霉素在处理后的处理1、7 d表现为激活作用,但是其他时间对土壤呼吸作用均起抑制作用;诺氟沙星在浓度较低时对土壤呼吸作用起到抑制作用,但在浓度较高时对土壤呼吸作用起到激活作用,在进行处理15 d后,所有经过处理的微生物呼吸作用都基本上恢复到了对照水平,表明微生物对其能够产生适应性^[4]。

抗生素残留对土壤氨化在1~3 d内促进作用明显,3 d以后铵态氮含量逐渐减少。四环素和金霉素残留对土壤氨化有刺激作用,而诺氟沙星残留则会对其起抑制作用。6 d后四环素和诺氟沙星残留对土壤氨化有一定的刺激作用,金霉素残留会抑制土壤的氨化作用。四环素残留对土壤氨化作用有刺激作用,而诺氟沙星和金霉素残留则会对其起抑制作用。土壤氨化作用强度与土壤的供氮能力在一定程度上有很大关系。因此,如果土壤中抗生素残留一直保持较高浓度,会大大影响土壤的供氮能力^[5]。

参考文献:

- [1] 王金花,朱鲁生,王 军,等. 4种典型抗生素对土壤微生物呼吸的影响[J]. 农业环境科学学报,2011,30(11):2232-2236.
- [2] Beyer L. Intersite characterization and variability of soil respiration in different arable and forest soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 1991,12:122-126.
- [3] Buyanovsky G A, Wagner G H, Gantzer C J. Soil respiration in a winter wheat ecosystem[J]. Soil Science Society of America Journal, 1986,50:338-344.
- [4] Zelles L, Bahig M E. Measurement of bioactivity based on CO₂-released and ATP content in soil after different treatments[J]. Chemosphere,1984,13(8):899-913.
- [5] Zhu L S, Zhang Y F, Fan D F, et al. Study on the effects of phoxim, fenprothrin and its mixture on respiration of soil microbe[J]. A Groenvironmental Protection,1999,18(1):25-27.