

畜禽粪便农用对土壤氨氧化及其功能微生物的影响

贾爱萍¹, 孙迎韬¹, 李文彦¹, 史艳财¹, 陈晓阳², 李永涛^{1*}

(1.华南农业大学资源环境学院, 广州 510642; 2.华南农业大学林学院, 广州 510642)

摘要: 畜禽粪便作为有机肥农用是对养殖业产生的大量有机废弃物重要的综合利用途径。由于常含有重金属和抗生素等多种污染物, 长期施用不仅污染土壤环境, 而且影响土壤关键过程和土壤质量。本文综述了畜禽粪便农用对土壤氨氧化过程及其功能微生物影响的研究进展, 表明: 重金属对氨氧化过程及其功能微生物具有抑制作用, 抑制影响程度与重金属种类和可溶性重金属相关, 而与重金属全量相关性不高; 抗生素对土壤氨氧化的影响过程和作用机制具有种间差别, 如氟奎诺酮类抗生素在中高浓度时抑制氨氧化过程及功能微生物, 而四环素类却表现出增益作用; 抗生素与重金属对土壤氨氧化的复合影响有待进一步研究。

关键词: 畜禽粪便; 重金属; 抗生素; 氨氧化微生物

中图分类号: X713 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2014)03-0415-07 doi:10.11654/jaes.2014.03.002

Effects of Manure Application on Soil Ammonia Oxidation and Functional Microorganism

JIA Ai-ping¹, SUN Ying-tao¹, LI Wen-yan¹, SHI Yan-cai¹, CHEN Xiao-yang², LI Yong-tao^{1*}

(1.College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2.College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Livestock and poultry manure as an organic fertilizer are used to resolve environmental treatment of wastes. The long-term application of manure which often contain heavy metals and antibiotics and other pollutants may pollute the soil, affect soil key process, and reduce soil quality; The article reviewed the effect of agricultural application of manure on the soil ammonia oxidation process and functional microorganism. The research progress show that: heavy metals have an inhibitory effect on the ammonia oxidation process and functional microbes, and the inhibitory degree is closely related with heavy metal species and soluble heavy metals, but no correlation with heavy metal total; The process and mechanism of antibiotic effects on soil ammonia oxidizing process and microorganisms has interspecific differences. Fluoroquinolone antibiotics inhibited ammonia oxidation at high concentrations, while tetracyclines showed opposite trend. Interaction of antibiotics and heavy metals on soil ammonia oxidation should be further studied. This review provides the reference for the evaluation and indication of the feces of livestock and poultry farm soil ecological risk.

Keywords: livestock and poultry manure; heavy metals; antibiotics; ammonia oxidation

我国畜禽养殖业飞速发展, 近 20 年来, 我国肉、禽和蛋的产量居世界第一^[1]。同时, 养殖业产生了大量畜禽粪便, 据统计, 2009 年中国畜禽粪便(粪+尿)排放量为 32.64 亿 t 鲜重, 是同期工业固体废物排放总

量的 1.6 倍(中华人民共和国统计局, 2010)。畜禽粪便中含有丰富有机质和作物生长必需的营养元素, 据 2010 年发布的《第一次全国污染源普查公报》显示, 2007 年我国畜禽养殖业粪便产生量中含总氮 102.48 万 t, 总磷 16.04 万 t, 铜 2 397.23 t, 锌 4 756.94 t。将其作为有机肥料农用既可大量处置畜禽粪便, 解决环境污染问题, 又能利用其中的养分资源提高作物产量, 培肥土壤, 提高耕地地力^[2-5]。然而, 畜禽粪便中常因饲料添加剂等途径含有 Zn、Cu、Cd、Cr、As 等重金属元素^[6], 由于重金属的添加量普遍高于畜禽生长的实际

收稿日期: 2014-02-20

基金项目: 国家自然科学基金(41240007, 4117121); 广东省低碳发展专项资金(2012-029); 广东省和广州市科技计划项目(2012B020310002, 12C12101665)

作者简介: 贾爱萍(1978—), 女, 河北固安人, 博士研究生, 主要从事农田土壤环境质量研究。E-mail: jap7806x@126.com

* 通信作者: 李永涛 E-mail: yongtao@scau.edu.cn

需求量,加之畜禽对微量重金属元素吸收利用率低,导致大量重金属随粪便排出体外进入环境^[7-9]。另外,规模化养殖场为预防或治疗动物疾病,滥用抗生素的情况越来越严重^[10-11],我国每年约有 6000 t 兽用抗生素用于畜禽饲料添加剂,占全球抗生素饲料添加剂使用量的 50%,其中四环素类抗生素在我国及世界畜禽养殖业中的生产量与实际使用量均为最大^[12-13],将近 30%~90%之多的抗生素以母体或代谢产物的形式随粪尿排出体外^[2,14-16]。含有大量的重金属和抗生素类污染物的畜禽粪便作为农用肥料,长期大量施用可导致土壤重金属^[17]、抗生素及其代谢活性产物含量的逐渐升高^[18],引起重金属和抗生素的复合污染^[20],产生潜在生态风险,进而进入食物链危害人类健康。

氮素是所有生物必需的营养元素,土壤是氮素主要的源和汇,土壤氮素生物地球化学循环是维持生物体结构组成和执行所有生物化学过程的基础,是标识土壤质量的重要特性之一。硝化作用是全球氮循环的主要过程之一^[21],由氨氧化微生物参与的氨氧化作用是硝化作用的第一个反应步骤,也是限速步骤^[22-24],氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA)是整个自然界氨氧化作用的主要参与者^[25]。研究表明,所有的氨氧化菌都含有编码催化氨氧化第一步反应的氨单加氧酶 *amoA* 基因,*amoA* 基因在氨氧化菌中普遍存在且可作为氨氧化菌特异的分子标记。鉴于这些特点,氨氧化微生物作为理想的微生物生态研究的模型受到广泛的关注^[26]。耕作土壤长期施用畜禽粪便等有机肥,可提高氮素水平,增加氨氧化微生物的数量,提高氨氧化作用强度^[27]。但随畜禽粪便进入土壤的重金属和抗生素等污染物通过影响氨氧化微生物的群落结构和多样性以及相关土壤酶的活性^[28],对氨氧化过程产生不同程度影响^[22,25-26]。研究驱动土壤氨氧化过程的功能微生物 AOB 和 AOA 对外源加入含重金属和抗生素的畜禽粪便等有机肥的响应过程,明确两者在氮循环过程中的生态功能和土壤氨氧化作用的特征,探索抗生素及重金属等污染物对 AOB 和 AOA 影响机制,建立畜禽粪便农用安全性评估指示体系,为安全、合理利用畜禽粪便,培肥土壤,减轻或消除环境污染提供基础资料。

1 畜禽粪便重金属残留对土壤氨氧化及其功能微生物的影响

1.1 畜禽粪便残留重金属污染

目前,我国普遍存在 Cu、Zn、Cd、As 等重金属在

农田土壤中累积的现象,而过量的重金属即会产生毒害或具有潜在毒害作用^[29]。利用受重金属污染的畜禽粪便改良土壤被认为是这些重金属元素输入农业用地的主要途径^[30-31]。有调查显示,施用畜禽粪便的土壤中 Cu 和 Zn 的含量在 18~109 mg·kg⁻¹ 和 72~170 mg·kg⁻¹^[32]。根据对江苏省 150 个养殖场调查结果,1990 至 2008 年,猪粪中 Cu、Zn、As、Cr 和 Cd 含量分别增加了 771%、410%、420%、220%和 63%,牛粪中相应的重金属分别增加了 212%、95%、200%、791%和 63%,禽粪中增加了 181%、197%、1500%、261%和 196%^[33]。我国猪粪中重金属的超标率为 10.3%~69.0%,以 Zn、Cu、Cd 和 As 超标为主^[34-35]。长期大量施用含重金属畜禽粪便势必造成土壤重金属污染,进而影响土壤微生态系统和耕地质量,对人群健康造成威胁。

1.2 重金属污染对土壤氨氧化及其功能微生物的影响

土壤中氨氧化微生物在氮素循环和土壤质量保持方面发挥着重要作用,重金属污染对土壤微生物以及氨氧化菌群落有显著抑制作用^[30,36]。研究表明,微生物对重金属污染的反应比其他任何生物都要敏感,尤其是氨氧化微生物^[29]。进入土壤的重金属主要是通过影响氨氧化微生物细胞酶类(氨单加氧酶、羟胺氧化还原酶、亚硝酸盐还原酶、氧化氮还原酶)进而干扰硝化过程的进行^[37]。在重金属轻度污染的情况下,可诱导土壤氨氧化微生物产生抗性,主要是通过敏感微生物物种消亡与抗性微生物物种快速繁殖,使氨氧化微生物数量和群落结构以及多样性发生改变,以此来保持土壤微生态系统的稳定性^[38-39]。随着重金属(如 Cu、Zn)污染浓度的增加,土壤氨氧化作用显著降低,氨氧化微生物数量和潜在硝化率(PNR)明显下降^[39-42]。

AOB 与 AOA 在不同污染条件下具有不同的响应模式。Ollivier 等^[36]研究结果显示,高浓度 As(83 g·kg⁻¹)和 Pb(15 g·kg⁻¹)污染使土壤中的 AOB 和 AOA 数量明显减少,而低浓度 As(10 g·kg⁻¹)和 Pb(0.2 g·kg⁻¹)污染的土壤,只有 AOB 受到抑制。有研究表明,在 Zn 污染土壤中,AOB/AOA 的比值上升,主要由 AOB 的群落结构发生改变产生抗性,AOA 基本没受到影响^[39-40]。此外,重金属种类及其化学形态对氨氧化微生物毒性的影响也有差异,对氨氧化微生物的影响与可溶性重金属部分密切相关,而与重金属全量无相关性^[43]。Semerci 等^[44]在活性污泥系统中研究发现 Cd²⁺显著地抑制氨氧化过程,与 Cd 全量无相关性。

目前土壤重金属污染多数是两种或两种以上重

金属造成的复合污染。氨氧化微生物对污染抗性的产生主要与污染物种类密切相关。研究显示,受 Pb 污染的土壤氨氧化微生物群落对 Zn 具有交叉抗性,受 Zn 污染土壤的氨氧化微生物群落对 Pb 同样具交叉抗性^[45]。同时被 Cd、Ni、Pb、Zn 和 Cu 污染的土壤中,氨氧化微生物产生的诱导抗性不针对某一种重金属污染物,而是对其中所有重金属污染物都具有抗性^[38]。由于某种污染诱导产生的抗性可能对其他污染物的入侵抵抗能力非常脆弱,但如果污染物的影响机制与第一种污染物相同时,其稳定性和抗性要比土著微生物群落强,两种或两种以上重金属复合污染共存时对土壤微生物产生的效应,主要与重金属类型、浓度和作用机制有关^[46-47]。土壤氨氧化过程对重金属的敏感性可以作为对重金属污染的评估标准,探究畜禽粪便农用过程中残留重金属在土壤中的累积情况,分析畜禽粪便农用引起重金属污染对土壤氨氧化作用的影响,研究氨氧化微生物对重金属污染的响应机制,可有效指示重金属污染,建立重金属污染与重金属敏感分子生物学指标之间的相关关系,为建立土壤环境质量的生物学评价方法,合理利用畜禽粪便改良土壤提供科学依据。

2 畜禽粪便抗生素残留对土壤氨氧化及其功能微生物的影响

2.1 畜禽粪便残留抗生素污染

全世界畜禽养殖业普遍利用抗生素治疗和预防动物疾病,或将抗生素用作饲料添加剂以促进动物生长。土耳其 33% 的养殖业资金用于抗生素类添加剂,美国每年抗生素的用量为 1.6 万 t,其中 70% 用作促进动物生长的添加剂^[6],而我国抗生素使用量几乎占全世界的四分之一^[48-49],且用量还在不断增加。过量抗生素在动物体内不能被完全吸收,多数以母体或代谢产物的形式随畜禽粪便排出体外,其中含量最高的抗生素为四环素类(TCs)、磺胺类、氟喹诺酮等^[50]。Liu 等在江苏省畜禽养殖场抽取的 181 份畜禽粪便检测结果显示,土霉素和金霉素的检出率为 16.6% 和 38.1%,其平均含量为 $2.11 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $11.96 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[51]。大量抗生素类污染物随畜禽粪便农用进入土壤,造成土壤环境污染和生态环境的破坏^[52-53]。在我国城市边缘地区和特大城市周围,抗生素引起的土壤环境污染问题尤为突出^[54]。对北京周边 24 块农业用地耕层土壤进行调查分析,磺胺嘧啶类、金霉素、恩佛沙星含量分别 0.11、0.11、0.062 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[54]。Zhang 等对施用畜禽粪肥

的农田表层土壤中土霉素、四环素和金霉素进行检测,检出率分别为 93%、88% 和 93%,残留量分别在检测限以下至 5.172 、 $0.553 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.588 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间,施用畜禽粪肥农田表层土壤土霉素、四环素和金霉素的平均残留量分别为未施畜禽粪肥农田的 38 倍、13 倍和 12 倍^[55]。当土霉素含量高于 $25 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,在土壤中存留时间在 40 d 以上,我国一些地区土壤中土霉素含量达 $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。畜禽粪便残留的抗生素在土壤中的累积,对生态环境和人群健康产生的威胁不断加重。

2.2 抗生素污染对土壤氨氧化及其功能微生物的影响

抗生素可抑制土壤氨氧化微生物的生长、繁殖、代谢及活性产生^[25, 52, 56],改变氨氧化微生物群落结构和多样性,且抗生素对其群落结构的影响具有持久性^[57],进而影响土壤中氮元素的生物地球化学过程^[18, 58],干扰生态系统物质循环和能量流动^[59]。Hammesfahr 等^[28]利用磺胺嘧啶污染的新鲜和腐熟猪粪进行试验,结果显示磺胺嘧啶显著抑制 AOB 与 AOA 的生长,降低氨氧化微生物的丰富度和多样性,进而抑制氨氧化过程^[25, 28, 60]。

抗生素对土壤氨氧化微生物的影响与污染物含量、土壤养分、土壤理化性质(pH、湿度、有机质含量、孔隙度等)、植被类型、抗生素种类及其他环境因素(温度、光照)等密切相关^[2]。不同浓度抗生素对土壤氨氧化微生物影响差异明显,如氟奎诺酮类抗生素低浓度(0.01 、 $0.1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)刺激土壤呼吸和氨氧化作用,在 $1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时对土壤呼吸和氨氧化作用产生抑制,在 $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时强烈抑制土壤氨氧化过程^[61]。红霉素能显著抑制氨氧化微生物 AOB 的生长,但与轻度抗生素污染(0.2 、 $0.5 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)相比,中度(1.0 、 $2.0 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和高度抗生素污染($10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)对土壤氨氧化微生物 AOB 有增益作用^[18]。这一结果与大多数研究认为抗生素抑制微生物的生长和繁殖的结论相反,分析原因可能是随畜禽粪便进入土壤的抗生素种类繁多,作为一种有机物质,除对土壤微生物具有抑制作用外,也可能在土壤中降解,生成底物为微生物提供碳源,促进利用该类碳源的微生物生长。

抗生素影响土壤氨氧化微生物参与的生态系统过程^[60],不同抗生素在土壤中的环境行为导致其对土壤微生物群落、土壤呼吸及酶活性产生不同影响,3 种磺胺类(磺胺甲恶唑、磺胺甲嘧啶、甲氧苄氨嘧啶)和 3 种四环素类(金霉素、四环素、泰乐菌素)抗生素对土壤磷酸酶活性都具有抑制作用,磺胺类对土壤呼

吸的影响具有瞬时效应,四环素类抗生素对土壤呼吸的影响较小,两类抗生素共存时,由于各自的环境行为(吸附、降解及与重金属的螯合作用)导致其对土壤氨氧化微生物的毒性效应各不相同^[62]。

目前关于抗生素对土壤微生物的影响研究较多,且多以描述微生物群落和多样性及诱导抗性基因的研究为主^[6,63-64],有关抗生素对氨氧化作用的参与微生物 AOB 和 AOA 的具体影响机理研究较少,需要进一步就抗生素对氨氧化微生物的作用过程和影响机制进行深入探讨。

3 畜禽粪便重金属和抗生素对土壤氨氧化及其功能微生物的复合影响

由于畜禽养殖过程中抗生素类和重金属类添加剂的加入,致使两类污染物同时随畜禽粪便农用进入土壤,形成有机抗生素类和无机重金属类污染物共存对氨氧化及其功能微生物的复合作用,结果更加复杂^[65]。目前已有关于抗生素与重金属共存情况下复合污染的研究多集中在物理化学方法的角度,如土壤吸附及抗生素与重金属离子的络合作用。抗生素与重金属在土壤中相互作用产生不同于单一污染物存在的环境行为,研究显示,四环素类抗生素可为重金属离子提供电子配体,与重金属离子络合。重金属离子的存在可促进四环素在土壤中的吸附,促进能力与重金属的络合能力有关。四环素对重金属在土壤中的吸附影响取决于重金属的类型。 Cu^{2+} 与四环素有很强的络合能力,当土壤 $\text{pH}<7$ 时,两者共存情况下可互相促进吸附能力,当 $\text{pH}>7$ 时,二者的解吸同样是互相促进的。而 Pb^{2+} 的吸附能力比四环素强,二者共存时四环素对 Pb^{2+} 的吸附作用不产生影响, Pb^{2+} 可以促进四环素的吸附,特别是在碱性条件下。四环素与 Cd^{2+} 共存时,对 Cd^{2+} 的吸附作用影响很弱,同样 Cd^{2+} 的存在对四环素的吸附能力也没有影响^[66]。目前,关于四环素类抗生素与重金属离子的关系以及在土壤中的移动性尚未清晰^[67]。研究显示,抗生素与重金属共存时,对土壤微生物的影响加强;土霉素与铜同时存在于土壤时,对土壤微生物群落功能影响更加显著^[43]。关于抗生素与重金属复合污染对土壤微生物群落结构及多样性的研究报道比较少,而且多数停留在对土壤微生物数量及群落结构方面表象的描述,关于两类污染物复合对土壤微生物群落影响机制还需进一步深入探讨,另外复合污染具体对氨氧化微生物 AOA 和 AOB 的影响过程和影响机制尚未见到报道。

4 研究展望

畜禽粪便作为有机肥农用既可以解决其带来的环境污染问题,又可利用其中的养分资源提高作物产量和土壤质量,但养殖过程中饲料添加剂的使用,有机类抗生素和无机类重金属随畜禽粪便排入环境,不断在土壤中累积,使得畜禽粪便农用带来了更加复杂的环境污染问题。氨氧化过程在氮循环中起着关键作用,其驱动微生物-氨氧化微生物对外源污染物的反应十分敏感,可作为土壤污染和土壤质量变化的指示指标。研究畜禽粪便农用过程中抗生素、重金属以及两类污染物共存时对敏感氨氧化微生物的作用过程和作用机制,可为畜禽粪便安全、合理的资源化利用提供基础理论资料。合理利用畜禽粪便资源,有效提升土壤质量,可从以下几个方面做进一步探讨。

(1) 重金属污染对氨氧化及其功能微生物的影响与重金属类型及其化学性质有关,研究单一或两种及以上重金属污染对氨氧化及其微生物的影响过程和作用机制,建立氨氧化微生物对不同种类重金属污染的响应关系,为利用氨氧化微生物及时指示土壤重金属污染提供科学依据。

(2) 不同种类抗生素对土壤氨氧化及其功能微生物的作用过程和机制也有差别,今后可对畜禽粪便中常见抗生素单一或两种及以上复合污染对土壤氨氧化及其功能微生物的影响过程和作用机制进行探索。

(3) 抗生素与重金属复合污染对土壤微生物群落结构及多样性的研究报道比较少,且不够深入,两类污染物复合对氨氧化微生物 AOA 和 AOB 的影响过程和影响机制尚未见到报道,今后可对抗生素与重金属复合污染对土壤微生物群落及氨氧化微生物的影响机制进行深入研究。

参考文献:

- [1] Fu Q, Zhu Y Q, Kong Y F, et al. Spatial analysis and districting of the livestock and poultry breeding in China[J]. *Journal of Geographical Sciences*, 2012, 22(6):1079-1100.
- [2] Fang H, Han Y L, Yin Y M, et al. Variations in dissipation rate, microbial function and antibiotic resistance due to repeated introductions of manure containing sulfadiazine and chlortetracycline to soil[J]. *Chemosphere*, 2014, 96:51-56.
- [3] Song K Y, Li Y, Ouyang W, et al. Manure nutrients of pig excreta relative to the capacity of cropland to assimilate nutrients in China[J]. *Proceedia Environmental Sciences*, 2012, 13:1846-1855.

- [4] Hargreaves J C, Adl M S, Warman P R A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2008,123(1-3):1-14.
- [5] Weber J, Karczewska A, Drozd J, et al. Agricultural and ecological aspects of a sandy soil as affected by the application of municipal solid waste composts[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(6):1294-1302.
- [6] Ji X L, Shen Q H, Liu F, et al. Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai, China[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 235-236:178-185.
- [7] Kumar R R, Park B J, Cho J Y. Application and environmental risks of livestock manure[J]. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 2013,56(5):497-503.
- [8] Wang L M, Luo X Z, Zhang Y M, et al. Community analysis of ammonia-oxidizing Betaproteobacteria at different seasons in microbial-earthen worm ecofilters[J]. *Ecological Engineering*, 2013,51:1-9.
- [9] Kuligowski K, Stoholm P, Pind N, et al. Nutrients and heavy metals distribution in thermally treated pig manure[J]. *Waste Management & Research*, 2008,26(4):347-354.
- [10] Guo J B, Ostermann A, Siemens J, et al. Short term effects of copper, sulfadiazine and difloxacin on the anaerobic digestion of pig manure at low organic loading rates[J]. *Waste Management*, 2012,32(1):131-136.
- [11] Hölzel C S, Müller C, Harms K S, et al. Heavy metals in liquid pig manure in light of bacterial antimicrobial resistance[J]. *Environmental Research*, 2012,113:21-27.
- [12] Zhao Y P, Tan Y Y, Guo Y, et al. Interactions of tetracycline with Cd(II), Cu(II) and Pb(II) and their cosorption behavior in soils[J]. *Environmental Pollution*, 2013,180:206-213.
- [13] Zhao L, Dong Y H, Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2010,408(5):1069-1075.
- [14] 王瑞, 魏源送. 畜禽粪便中残留四环素类抗生素和重金属的污染特征及其控制[J]. 农业环境科学学报, 2013,32(9):1705-1719.
WANG Rui, WEI Yuan-song. Pollution and control of tetracyclines and heavy metals residues in animal manure[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013,32(9):1705-1719.
- [15] Zhang Y P, Zhang C Q, Parker D B, et al. Occurrence of antimicrobials and antimicrobial resistance genes in beef cattle storage ponds and swine treatment lagoons[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 463:631-638.
- [16] de la Torre A, Iglesias I, Carballo M, et al. An approach for mapping the vulnerability of European Union soils to antibiotic contamination[J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 414: 672-679.
- [17] Legros S, Doelsch E, Feder F, et al. Fate and behaviour of Cu and Zn from pig slurry spreading in a tropical water soil plant system[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2013,164:70-79.
- [18] Yu B B, Wang X, Yu S, et al. Effects of roxithromycin on ammonia-oxidizing bacteria and nitrite-oxidizing bacteria in the rhizosphere of wheat[J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2014, 98(1):263-272.
- [19] Heuer H, Schmitt H, Smalla K. Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2011,14(3):236-243.
- [20] Wu F, Jiang W, Wu B. Methodological aspects about determination of plant defensive phenolics in response to stress[J]. *Current Analytical Chemistry*, 2013,9(3):360-367.
- [21] 黄蓉, 张金波, 钟文辉, 等. 土地利用方式对万木林土壤氨氧化微生物丰度的影响[J]. 土壤, 2012(4):581-587.
HUANG Rong, ZHANG Jin-bo, ZHONG Wen-hui, et al. Abundances of ammonia-oxidizing prokaryotes and gross nitrification activities in forest soil under different vegetations in a natural reserve[J]. *Soils*, 2012(4):581-587.
- [22] Ai C, Liang G Q, Sun J W, et al. Different roles of rhizosphere effect and long-term fertilization in the activity and community structure of ammonia oxidizers in a calcareous fluvo-aquic soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013,57:30-42.
- [23] Long X E, Chen C G, Xu Z H, et al. Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in a temperate forest ecosystem under ten-years elevated CO₂[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 46:163-171.
- [24] You J, Das A, Dolan E M, et al. Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal[J]. *Water Research*, 2009,43(7):1801-1809.
- [25] Schauss K, Focks A, Leininger S, et al. Dynamics and functional relevance of ammonia-oxidizing archaea in two agricultural soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2009,11(2):446-456.
- [26] Dong X L, Reddy Gudigopuram B. Ammonia-oxidizing bacterial community and nitrification rates in constructed wetlands treating swine wastewater[J]. *Ecological Engineering*, 2012,40:189-197.
- [27] Zhao J, Xu J X, Wang J W, et al. Impacts of human lysozyme transgene on the microflora of pig feces and the surrounding soil[J]. *Journal of Biotechnology*, 2012,161(4):437-444.
- [28] Hammesfahr U, Bierl R, Thiele-Bruhn S. Combined effects of the antibiotic sulfadiazine and liquid manure on the soil microbial-community structure and functions[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2011,174(4):614-623.
- [29] Broos K, Mertens J, Smolders E. Toxicity of heavy metals in soil assessed with various soil microbial and plant growth assays: A comparative study[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005,24(3): 634-640.
- [30] Ruyters S, Mertens J, Springael D, et al. Stimulated activity of the soil nitrifying community accelerates community adaptation to Zn stress[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010,42(5):766-772.
- [31] Sheppard S C, Grant C A, Sheppard M I, et al. Risk indicator for agricultural inputs of trace elements to Canadian soils[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2009,38(3):919-932.
- [32] Ogiyama S, Sakamoto K, Suzuki H, et al. Accumulation of zinc and copper in an arable field after animal manure application[J]. *Soil Sci Plant Nutr*, 2005,51(6):801-808.
- [33] Wang H, Dong Y H, Yang Y Y, et al. Changes in heavy metal contents in animal feeds and manures in an intensive animal production region of China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2013,25(12):2435-

- 2442.
- [34] 李书田, 刘荣乐, 陕红. 我国主要畜禽粪便营养成分含量及变化分析[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(1):179-184.
- LI Shu-tian, LIU Rong-le, SHAN Hong. Nutrient contents in main animal manures in China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(1):179-184.
- [35] 姚丽贤, 李国良, 党志. 集约化养殖禽畜粪中主要化学物质调查[J]. 应用生态学报, 2006, 17(10):1989-1992.
- YAO Li-xian, LI Guo-liang, Dang Zhi. Major chemical components of poultry and livestock manures under intensive breeding[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(10):1989-1992.
- [36] Ollivier J, Wanat N, Austruy A, et al. Abundance and diversity of ammonia-oxidizing prokaryotes in the root-rhizosphere complex of *misanthusxgiganteus* grown in heavy metal-contaminated soils[J]. *Microbial Ecology*, 2012, 64(4):1038-1046.
- [37] 孙仁华, 温东辉. 杭州湾水环境中氨氧化微生物对外源氨氮的响应[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2013(5):908-914.
- SUN Ren-hua, WEN Dong-hui. Responses to external ammonium source by the ammonia oxidation microorganisms from Hangzhou Bay[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 2013, 49(5):908-914.
- [38] Ruyters S, Mertens J, Springael D, et al. Co-tolerance to zinc and copper of the soil nitrifying community and its relationship with the community structure[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 44(1):75-80.
- [39] Ruyters S, Mertens J, Springael D, et al. Stimulated activity of the soil nitrifying community accelerates community adaptation to Zn stress[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(5):766-772.
- [40] Mertens J, Wakelin S A, Broos K, et al. Extent of copper tolerance and consequences for functional stability of the ammonia-oxidizing community in long-term copper-contaminated soils[J]. *Environmental Toxicology Chemistry*, 2010, 29(1):27-37.
- [41] Mertens J, Ruyters S, Springael D, et al. Resistance and resilience of zinc tolerant nitrifying communities is unaffected in long-term zinc contaminated soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(7):1828-1831.
- [42] Sverdrup L E, Linjordet R, Stromman G, et al. Functional and community-level soil microbial responses to zinc addition may depend on test system biocomplexity[J]. *Chemosphere*, 2006, 65(10):1747-1754.
- [43] Kong W D, Zhu Y G, Fu B J, et al. The veterinary antibiotic oxytetracycline and Cu influence functional diversity of the soil microbial community[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 143(1):129-137.
- [44] Semerci N, Çeçen F. Importance of cadmium speciation in nitrification inhibition[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, 147(1-2):503-512.
- [45] Rusk J A, Hamon R E, Stevens D P, et al. Adaptation of soil biological nitrification to heavy metals[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(11):3092-3097.
- [46] Tobor-Kaplon M A, Bloem J, De Ruiter P C. Functional stability of microbial communities from long-term stressed soils to additional disturbance[J]. *Environmental Toxicology Chemistry*, 2006, 25(8):1993-1999.
- [47] Tobor-Kaplon M A, Bloem J, Romkens P F A M, et al. Functional stability of microbial communities in contaminated soils near a zinc smelter (Budel, The Netherlands)[J]. *Ecotoxicology*, 2006, 15(2):187-197.
- [48] Jiang X, Ma Y, Yuan J, et al. Soil particle surface electrochemical property effects on abundance of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea, NH_4^+ activity, and net nitrification in an acid soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(11):2215-2221.
- [49] Gao Y, Miao C Y, Xia J, et al. Plant diversity reduces the effect of multiple heavy metal pollution on soil enzyme activities and microbial community structure[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2012, 6(2):213-223.
- [50] Liu L, Liu C X, Zheng J Y, et al. Elimination of veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes from swine wastewater in the vertical flow constructed wetlands[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(8):1088-1093.
- [51] 刘新程, 董元华, 王辉. 江苏省集约化养殖畜禽排泄物中四环素类抗生素残留调查[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3):1177-1182.
- Liu X C, Dong Y H, Wang Hui. Residues of tetracyclines in animal manure from intensive farm in Jiangsu Province[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3):1177-1182.
- [52] Kotzerke A, Sharma S, Schauss K, et al. Alterations in soil microbial activity and N-transformation processes due to sulfadiazine loads in pig-manure[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 153(2):315-322.
- [53] Kim K R, Owens G, Ok Y S, et al. Decline in extractable antibiotics in manure-based composts during composting[J]. *Waste Manage*, 2012, 32(1):110-116.
- [54] Ostermann A, Siemens J, Welp G, et al. Leaching of veterinary antibiotics in calcareous Chinese croplands[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(7):928-934.
- [55] Zhang H M, Zhang M K, Gu G P. Residues of tetracyclines in livestock and poultry manures and agricultural soils from North Zhejiang Province[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2008, 24(3):69-73.
- [56] Hammesfahr U, Heuer H, Manzke B, et al. Impact of the antibiotic sulfadiazine and pig manure on the microbial community structure in agricultural soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(7):1583-1591.
- [57] Haller M Y, Muller S R, McArdell C S, et al. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 952(1-2):111-120.
- [58] Liu W, Pan N, Chen W, et al. Effect of veterinary oxytetracycline on functional diversity of soil microbial community[J]. *Plant Soil and Environment*, 2012, 58(7):295-301.
- [59] Zhou L J, Ying G G, Liu S, et al. Simultaneous determination of human and veterinary antibiotics in various environmental matrices by rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1244:123-138.
- [60] Boxall A B, Kolpin D W, Halling-Sorensen B, et al. Are veterinary medicines causing environmental risks?[J]. *Environmental Science &*

- Technology*, 2003, 37(15): 286A-294A.
- [61] 王加龙, 刘坚真, 陈杖榴, 等. 恩诺沙星残留对土壤微生物功能的影响[J]. 生态学报, 2005(2):279-282.
- WANG Jia-long, LIU Jian-zhen, CHEN Zhang-liu, et al. Effects of enrofloxacin residues on the functions of soil microbes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(2):279-282.
- [62] Liu F, Ying G G, Tao R, et al. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities[J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157(5):1636-1642.
- [63] Kyselkova M, Jirout J, Chronakova A, et al. Cow excrements enhance the occurrence of tetracycline resistance genes in soil regardless of their oxytetracycline content[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(10):2413-2418.
- [64] Li B, Zhang X X, Guo F, et al. Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-throughput sequencing analysis[J]. *Water Research*, 2013, 47(13): 4207-4216.
- [65] Gao M L, Song W H, Zhou Q, et al. Interactive effect of oxytetracycline and lead on soil enzymatic activity and microbial biomass[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2013, 36(2):667-674.
- [66] Zhao Y P, Tan Y Y, Guo Y, et al. Interactions of tetracycline with Cd (II), Cu (II) and Pb (II) and their cosorption behavior in soils[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 180:206-213.
- [67] Wu L H, Pan X, Chen L K, et al. Occurrence and distribution of heavy metals and tetracyclines in agricultural soils after typical land use change in east China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(12):8342-8354.