

外源土霉素和磺胺二甲嘧啶对土壤活性有机碳含量的影响

凌 德, 李 婷*, 张世熔, 李 云, 贾永霞, 徐小逊

(四川农业大学资源环境学院, 成都 611130)

摘 要: 为了解外源抗生素对土壤内环境的影响, 基于盆栽试验研究了不同浓度土霉素(OTC)和磺胺二甲嘧啶(SMZ)对土壤微生物量碳(MBC)、水溶性有机碳(WSOC)、易氧化碳(ROC)以及溶解性有机碳(DOC)含量的影响。结果表明, 4种活性有机碳指标对抗生素敏感性大小顺序为 WSCO>MBC>DOC>ROC。WSOC 和 DOC 含量随 OTC 和 SMZ 浓度升高整体呈递增趋势, WSOC 最大增幅分别达 137.1%和 251.8%, DOC 最大增幅分别达 31.9%和 10.7%; MBC 和 ROC 含量随 OTC 和 SMZ 处理浓度递增而降低, MBC 最大降幅分别达 47.8%和 52.4%, ROC 最大降幅分别达 4.9%和 7.4%。同一浓度 SMZ 胁迫对活性有机碳整体的影响效果强于 OTC。OTC 和 SMZ 浓度分别低于 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 土壤受到污染程度较低, 能够自我修复; OTC 和 SMZ 浓度分别达 $100 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $50 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 培养期结束土壤仍处于轻度污染, 存在较大环境风险。

关键词: 抗生素; 土壤污染; 微生物量碳; 水溶性有机碳; 易氧化碳; 溶解性有机碳

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2015)02-0297-06 doi:10.11654/jaes.2015.02.013

Effects of Exogenous Oxytetracycline and Sulfamethazine on Soil Labile Organic Carbon Contents

LING De, LI Ting*, ZHANG Shi-rong, LI Yun, JIA Yong-xia, XU Xiao-xun

(College of Resource and Environment, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Long-term applications of livestock excreta could lead to antibiotic accumulation in soils, thus affecting the ecological environment. In order to understand the impact of antibiotics on soil environment, a pot experiment was conducted to examine the effects of oxytetracycline (OTC) and sulfamethazine (SMZ) at different concentrations on soil microbial biomass carbon (MBC), water soluble organic carbon (WSOC), readily oxidized carbon (ROC) and dissolved organic carbon (DOC). Four types of labile organic carbons were sensitive to antibiotics as follows: WSCO>MBC>DOC>ROC. The contents of WSOC and DOC increased with increasing rates of OTC and SMZ. Applying OTC and SMZ led to a greatest increase of 137.1% and 251.8% for WSOC, and 31.9% and 10.7% for DOC, respectively. However, OTC and SMZ additions decreased soil MBC and ROC, with the largest reduction of 47.8% and 52.4% for MBC, and 4.9% and 7.4% for ROC, respectively. The soil could self-restore when OTC and SMZ were less than $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. However, the soil showed mild pollution at end of the experiment when exposed to $100 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ OTC and $50 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SMZ, respectively, thus posing environmental risk.

Keywords: antibiotics; soil pollution; microbial biomass carbon; water soluble organic carbon; readily oxidized carbon; dissolved organic carbon

随着养殖业集约化和规模化的快速发展, 每年有数万吨的抗生素被用于预防和治疗动物疾病^[1]。然而, 动物机体对抗生素吸收率较低, 摄入抗生素的 40%~

90%以原药或者代谢物的形式通过排泄物排出体外^[2], 未经处理的排泄物作为有机肥被大量施入农田, 为作物生长提供养分, 最终导致抗生素进入土壤并积累^[3]。土霉素(OTC)和磺胺二甲嘧啶(SMZ)在兽用抗生素中是使用最广泛、用量最大的抗生素之一, 目前土壤中 OTC 和 SMZ 最大残留量分别已达 $2.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[4-5], 残留抗生素会对植物、微生物等代谢活动产生胁迫, 而逆境下有机体的代谢活动受到抑

收稿日期: 2014-09-03

基金项目: 十二五国家科技支撑计划项目(2012BAD14B18-2)

作者简介: 凌 德(1990—), 男, 湖南湘潭人, 硕士研究生, 主要从事土壤抗生素污染方面的研究。E-mail: ld_soilsci@163.com

* 通信作者: 李 婷 E-mail: lt_sicau@163.com

制将对土壤内循环产生未知的影响^[6-8]。

活性有机碳参与植物和微生物代谢,是土壤中具有较高活性的能量来源,同时在土壤物质能量循环方面起重要作用^[9]。易氧化碳(ROC)、微生物量碳(MBC)、水溶性有机碳(WSOC)和溶解性有机碳(DOC)是土壤活性有机碳的重要表征指标,能直观反映土壤环境变化^[10]。目前通过活性有机碳的变化反映重金属、多环芳烃等污染物的影响已有诸多报道^[11-12],但是抗生素污染条件下对活性有机碳的影响却鲜为人知。因此,本研究拟通过盆栽试验探讨不同浓度和种类的抗生素胁迫对土壤活性有机碳含量的影响,反映抗生素污染下土壤养分转化及质量变化情况,并为抗生素污染评估及治理技术研发提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤:土样采自成都市四川农业大学农学试验基地稻田 0~20 cm 的耕层土壤。土壤样品自然风干除去植物残体及碎石后磨碎,过 2 mm 筛后混匀备用。土壤类型为潮土,质地为壤质粘土,土壤基本理化性质:pH6.3、总有机碳 20.11 g·kg⁻¹、全氮 1.09 g·kg⁻¹、碱解氮 68.1 mg·kg⁻¹、速效磷 16.2 mg·kg⁻¹、速效钾 156.2 mg·kg⁻¹。

供试辣椒:品种为羊角椒,种子购自四川省农业科学院。

供试药物:土霉素(Oxytetracycline, OTC, 水中溶解度 0.2 g·L⁻¹, CAS no. 2058-46-0)和磺胺二甲嘧啶(Sulfamethazine, SMZ, 水中溶解度 1.5 g·L⁻¹, CAS no. 57-68-1)购自上海顺达制药有限公司,纯度>98%。试验分析所用其他药品均为分析纯,购自成都万科化学试剂公司。

1.2 试验设计

试验共设置 8 个 OTC 浓度处理,分别为 0(CK)、1、5、10、50、100、150、200 mg·kg⁻¹,6 个 SMZ 浓度处理,分别为 0(CK)、1、5、10、50、100 mg·kg⁻¹。每个处理重复 3 次,并且试验处理随机排布。

称取 5 kg 风干过筛后的土壤和处理所需用量的抗生素(固体粉末),将其充分搅拌混匀后装入塑料盆(直径 30 cm,高 25 cm)。土壤含水量保持 75%田间持水量水平并持续 7 d(根据盆中土壤、水分和抗生素总质量的变化定时定量补充水量)。每处理选取 3 株长势相当的辣椒幼苗(株高 10~11 cm,叶片数量 6~7)移栽入盆中,幼苗存活后定苗 1 株,所有处理容器均移

入聚乙烯薄膜包裹的网室以避免雨水过量淋入。辣椒生长期土壤保持水量充足,每天少量多次供水。试验期间,所有农艺管理措施都按常规盆栽试验进行。

1.3 样品采集及分析

培养期共 103 d,辣椒收获后每处理随机采集辣椒主根周围 5 cm 土壤并混匀制成一个土样,其中一份鲜样在-4℃下保存,另一份风干备用,用于测定土壤总有机碳(TOC)、MBC、ROC、WSOC 和 DOC 含量。

TOC 测定采用高温外热 K₂Cr₂O₇ 氧化-容量法^[13];MBC 测定采用氯仿熏蒸-0.5 mol·L⁻¹ K₂SO₄ 提取法^[14];ROC 测定采用 KMnO₄ 氧化-比色法^[15];DOC 和 WSOC 提取及测定分别参照 Jones 等^[16]及郝瑞军等^[17]方法:DOC 采用 5 mmol·L⁻¹ CaCl₂ 溶液并振荡 30 min(水土比 5:1),WSOC 采用蒸馏水并振荡 30 min(水土比 2:1),振荡后其提取液均在 4000 r·min⁻¹ 转速下离心 20 min,取上清液过 0.45 μm 滤膜,所获滤液均采用岛津 TOC 5000 分析仪测定。

1.4 土壤微生物熵值计算方法

土壤微生物熵能够最大程度降低不同处理土壤有机质含量造成的差异响应,也是衡量土壤污染状况的重要指标^[18]。其计算公式为:

$$V=(M/T) \times 100\% \quad (1)$$

式中: V 为土壤微生物熵值,%; M 为土壤微生物量碳含量,mg·kg⁻¹; T 为土壤总有机碳含量,g·kg⁻¹。

1.5 数据分析

数值采用平均值±标准差表示,所有数据采用 Microsoft Excel 2007 和 SPSS 19.0 进行统计分析,采用 LSD 法检验处理间是否存在显著差异($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 OTC 和 SMZ 对土壤总有机碳的影响

外源 OTC 和 SMZ 污染将导致土壤中 TOC 含量升高(表 1),而在 1~5 mg·kg⁻¹ OTC 和 5 mg·kg⁻¹ SMZ 处理下,TOC 含量与对照相比无显著变化($P>0.05$)。当 OTC 和 SMZ 处理浓度分别达到 10~150 mg·kg⁻¹ 和 10~100 mg·kg⁻¹ 时,TOC 含量显著增加($P<0.05$),但 OTC 和 SMZ 处理浓度分别高于 50 mg·kg⁻¹ 和 10 mg·kg⁻¹ 时,TOC 含量在处理间并无显著差异。

2.2 OTC 和 SMZ 对土壤微生物量碳的影响

外源 OTC 对土壤 MBC 含量有明显的抑制作用(图 1)。OTC 处理浓度低于 5 mg·kg⁻¹ 时,MBC 含量与对照相比并无显著变化($P>0.05$);当 OTC 处理浓度为 10~150 mg·kg⁻¹ 时,MBC 含量降低 10.6%~50.9%

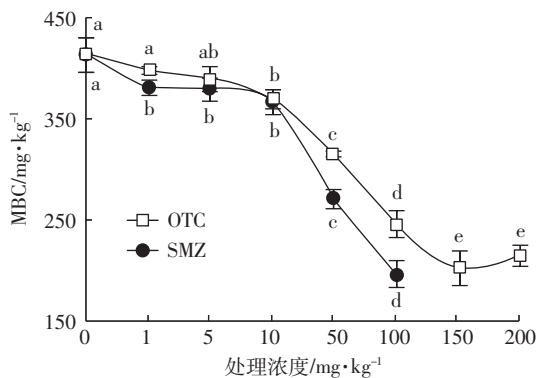
表 1 OTC 和 SMZ 对土壤 TOC 含量的影响

Table 1 Effect of OTC and SMZ on soil total organic carbon

OTC/mg·kg ⁻¹	TOC/g·kg ⁻¹	SMZ/mg·kg ⁻¹	TOC/g·kg ⁻¹
0	20.08±0.01ab	0	20.08±0.01a
1	19.93±0.06a	1	20.39±0.19bc
5	20.27±0.08bc	5	20.11±0.09ab
10	20.58±0.18d	10	20.52±0.11c
50	20.47±0.06c	50	20.46±0.20c
100	20.42±0.20cd	100	20.61±0.05c
150	20.44±0.20cd		
200	20.31±0.10bcd		

注:不同小写字母代表处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Values with different letters indicate significant difference by LSD ($P<0.05$). The same below.



同种抗生素的不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同

Values with different letters in the same treatment of antibiotics indicate significant difference ($P<0.05$). The same below

图 1 OTC 和 SMZ 对土壤微生物量碳的影响

Figure 1 Effect of OTC and SMZ on microbial biomass carbon

($P<0.05$)。SMZ 在 1~10 mg·kg⁻¹ 时能明显抑制 MBC 含量($P<0.05$),但是处理间并无显著差异;当 SMZ 处理达 100 mg·kg⁻¹ 时, MBC 含量降低 52.4%。

2.3 OTC 和 SMZ 对土壤水溶性有机碳的影响

抗生素胁迫下土壤 WSOC 含量呈上升趋势(图 2),但在 1~5 mg·kg⁻¹ OTC 处理下, WSOC 含量并无显著变化;当处理浓度增至 10~150 mg·kg⁻¹ 时, WSOC 含量显著增加,且增幅高达 43.8%~137.1% ($P<0.05$)。外源 SMZ 添加后, WSOC 含量变化敏感, 1 mg·kg⁻¹ SMZ 处理下, WSOC 含量增至 58.8 mg·kg⁻¹, 增幅为 149.5% ($P<0.05$); 随着 SMZ 处理浓度增加, WSOC 含量增幅明显增大,当 SMZ 处理达 100 mg·kg⁻¹ 时, WSOC 含量增幅高达 251.8% ($P<0.05$)。

2.4 OTC 和 SMZ 对土壤易氧化碳的影响

外源 OTC 添加会导致土壤 ROC 含量降低(表 2),但在低浓度(1~5 mg·kg⁻¹)时, ROC 含量无显著变

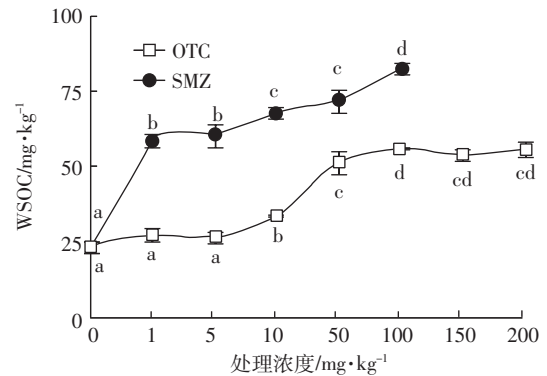


图 2 OTC 和 SMZ 对土壤水溶性有机碳的影响

Figure 2 Effect of OTC and SMZ on water-soluble organic carbon

表 2 OTC 和 SMZ 对土壤 ROC 含量的影响

Table 2 Effect of OTC and SMZ on soil readily oxidized carbon

OTC/mg·kg ⁻¹	ROC/mg·kg ⁻¹	SMZ/mg·kg ⁻¹	ROC/mg·kg ⁻¹
0	1.30±0.03a	0	1.30±0.03a
1	1.27±0.03ab	1	1.29±0.03ab
5	1.26±0.01ab	5	1.28±0.04ab
10	1.25±0.02b	10	1.27±0.01ab
50	1.25±0.01b	50	1.23±0.01b
100	1.24±0.01b	100	1.23±0.02b
150	1.25±0.01b		
200	1.24±0.01b		

化,当 OTC 浓度 ≥ 10 mg·kg⁻¹ 时,各处理 ROC 含量显著降低($P<0.05$)。OTC 处理中 ROC 最大降幅为 0.06 mg·kg⁻¹,为对照处理的 4.88%。低浓度(1~10 mg·kg⁻¹) SMZ 处理对土壤 ROC 含量无显著影响($P>0.05$),当 SMZ ≥ 50 mg·kg⁻¹ 时, ROC 含量表现出显著降低($P<0.05$),但其最大降幅仅为对照处理的 5.38%。以上结果表明, OTC 和 SMZ 处理浓度分别达到 10 mg·kg⁻¹ 和 50 mg·kg⁻¹ 后将导致土壤 ROC 含量下降。

2.5 OTC 和 SMZ 对土壤溶解性有机碳的影响

土壤 DOC 含量在 OTC 和 SMZ 胁迫下呈增加趋势(图 3)。低浓度 OTC (≤ 5 mg·kg⁻¹) 处理下, DOC 含量无显著变化, 当 OTC 处理浓度达 10 mg·kg⁻¹ 时, DOC 含量增加 31.4% ($P<0.05$); 但是 10~200 mg·kg⁻¹ OTC 处理下, DOC 增幅仅保持在 29.0%~32.0%, 且处理间并无显著差异($P>0.05$)。各 SMZ 处理 DOC 含量均无显著差异($P>0.05$),但在 SMZ 处理浓度达 50 mg kg⁻¹ 时, DOC 增幅达到 10.7%, 说明高浓度 SMZ 处理下土壤 DOC 含量具有增加趋势。

3 讨论

土壤中残留的抗生素会对非靶标动植物有机体

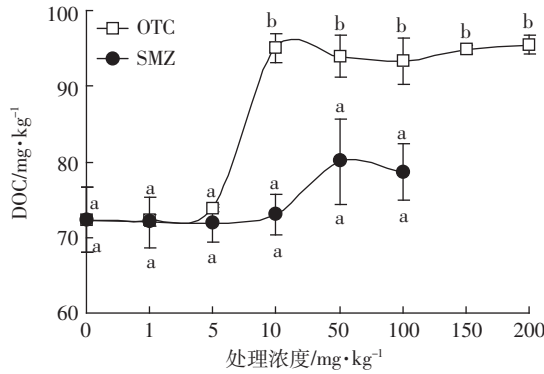


图 3 OTC 和 SMZ 对土壤溶解性有机碳的影响

Figure 3 Effect of OTC and SMZ on dissolved organic carbon

产生毒害,进而可能影响到土壤内环境的稳定。活性有机碳是对外界变化敏感的一部分有机碳,同时也是植物和微生物代谢活动中的能量来源,其组分含量的改变能够表征土壤环境的短期变动情况。

土壤 MBC 是土壤中细菌、真菌、微生物体内所含有的有机碳,能灵敏地反应土壤质量和健康状况的变化,是土壤污染预警的重要指标。本研究发现,OTC 和 SMZ 处理下 MBC 含量均显著降低,与姚建华等^[19]和刘爱菊等^[20]研究 OTC 和 SMZ 对土壤 MBC 影响的结果一致。这可能是土壤微生物组成及数量发生剧变所致,因为磺胺类和四环素类抗生素对土壤细菌和放线菌具有强烈的毒性^[21],抗生素进入土壤后,细菌等被大量杀死导致土壤细菌/真菌之比下降,微生物活性被抑制使其仅能维持正常代谢,微生物种群结构及多样性遭到破坏造成 MBC 含量大幅降低^[22-23]。

非污染、轻度污染和重度污染情况下,农业土壤微生物熵值分别为 2%~3%、0.94%~1.46%和≤0.6%^[18,24]。OTC 和 SMZ 处理浓度分别为 100~200 mg·kg⁻¹和 50~100 mg·kg⁻¹时,微生物熵值处于 0.94%~1.46%(表 3),说明培养期结束后土壤仍处于轻度污染;而当

表 3 OTC 和 SMZ 对土壤微生物熵值的影响

Table 3 Effect of OTC and SMZ on ratios of MBC to TOC

OTC/mg·kg ⁻¹	(MBC/TOC)/%	SMZ/mg·kg ⁻¹	(MBC/TOC)/%
0	2.07±0.10a	0	2.07±0.10a
1	1.99±0.03a	1	1.87±0.02b
5	1.93±0.08ab	5	1.89±0.06b
10	1.80±0.05b	10	1.79±0.07b
50	1.55±0.02c	50	1.33±0.06c
100	1.21±0.07d	100	0.96±0.08d
150	1.00±0.11e		
200	1.07±0.07e		

OTC 和 SMZ 处理浓度分别低于 50 mg·kg⁻¹和 10 mg·kg⁻¹时,土壤污染程度较低,能够进行自我修复。

土壤 WSOC 是微生物的底物,并且在提供土壤养分方面具有关键作用。本研究结果表明 WSOC 含量在 OTC 和 SMZ 残留的土壤中有显著增加,其原因可能是土壤微生物产生剧变。抗生素的加入对土壤微生物产生胁迫作用,造成微生物数量剧减及结构缺失^[23],微生物死亡、分解后会产生大量小分子糖、氨基酸等而增加土壤有机物质的含量,能够一定程度增加 WSOC 含量^[17]。另一方面,细菌产生的多聚物和真菌菌丝作为有机胶结物质在保持土壤团聚体稳定方面起到重要作用,土壤细菌的大量死亡和抗生素胁迫下微生物种群数量长期保持较低水平,将会降低土壤团聚体的稳定性^[25]。土壤团聚体受到破坏后,其包裹的小分子物质发生解聚,也进一步造成 WSOC 积累^[26]。此外,前人研究表明土壤微生物群落组成及数量产生剧变后可导致 WSOC 含量增加,也与本试验研究结果一致^[17]。

土壤 ROC 是对于微生物而言可利用性较高的有机碳,对土壤碳及质量的变化具有极高的灵敏性^[27]。本研究结果表明外源抗生素添加导致土壤 ROC 含量降低,可能是辣椒根系分泌物减少所致。根系分泌物经微生物作用后的产物是 ROC 的重要来源,而根系生长状况和根活力决定根系分泌物数量及质量^[28-29]。通过观察法发现,在 OTC 和 SMZ 胁迫下辣椒根长及数量与对照组相比均有明显减少,并且在 OTC 200 mg·kg⁻¹和 SMZ 100 mg·kg⁻¹处理下,辣椒根系死亡,根系发育受到抑制,最终造成 ROC 来源减少。此外,前人研究^[19,23]表明 OTC 和 SMZ 添加后对土壤微生物种群数量和活性均有显著抑制作用,可能减弱微生物分解转化根系分泌物的能力,进一步导致 ROC 积累受阻。

土壤 DOC 是土壤微生物代谢过程中重要的能量与物质源,而且其对污染物的化学活性与生物活性具有明显的影响。本研究发现 OTC 和 SMZ 两种抗生素添加下土壤 DOC 含量具有积累趋势,原因可能是污染物抑制微生物数量和活性,导致其对土壤活性有机碳库的矿化保持在较低水平^[12,18],造成 DOC 含量增加。另一方面,DOC 可充当污染物移动和扩散的载体,同时其在土壤胶体表面的强竞争性吸附^[30],可能导致例如抗生素类疏水性有机污染物在土壤中的溶解性增加,从而增强污染物生物有效性^[31]。污染物毒性提高可能进一步抑制微生物对 DOC 的消耗,导致

DOC 含量产生积累。

SMZ 添加后对土壤活性有机碳各组分含量的影响效果整体上强于同一浓度的 OTC 处理,可能是土壤对 OTC 和 SMZ 的吸附量不同所致。OTC 和 SMZ 在粘土中的吸附系数分别为 $290\sim 1030\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.6\sim 3.1\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$, OTC 被强烈吸附在土壤表面后导致其大量活性位点被覆盖,进而造成药物失活^[32-33]。SMZ 在土壤中大部分以游离态存在并且具有较强的移动性^[34],因而表现出较强的毒性。然而本研究发现,培养末期 OTC 处理对 DOC 含量的影响强于 SMZ 处理,其原因可能是 OTC 发生滞后解吸。OTC 添加后微生物受到胁迫,造成 DOC 含量上升,可能引起 DOC 在土壤胶体表面产生强竞争吸附,使 OTC 产生解吸作用并且药物活性增强,导致微生物活性及其对 DOC 消耗进一步降低,最终造成 DOC 在土壤中大量积累^[30-31]。此外,SMZ 影响低于 OTC 也可能是自身较高降解率所致。前人研究^[35-36]结果表明,SMZ 在自然土壤中半衰期为 102 d,而 OTC 代谢产物非常稳定,其半衰期高达 270 d,同时调查发现并证实土壤 OTC 最大残留量为 $2.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,远高于 SMZ 残留量 $0.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[4-5]。培养后期,由于 SMZ 半衰期较小,导致处理的真实含量远低于初始设计含量,因此微生物受到的胁迫作用减弱,其种群数量及活性会有一定程度恢复,在此期间 DOC 作为微生物代谢的重要能量来源被大量消耗^[35],造成 SMZ 处理在培养后期对 DOC 含量无显著影响。

本研究结果是通过模拟土壤环境的盆栽试验获得,与自然条件下田间实际情况可能具有一定差异,由于相关研究报告较少,还需在田间条件下进一步验证。此外,抗生素对活性有机碳影响的机理还需进一步研究。

4 结论

外源 OTC 和 SMZ 胁迫对土壤活性碳含量产生明显影响,其中土壤 MBC 和 ROC 含量呈现降低趋势,而 WSCO 和 DOC 含量产生积累效应。各指标绝对含量变化显示,ROC 含量变化幅度最小,WSCO 含量变化幅度最大。4 种活性有机碳组分对抗生素敏感性大小顺序为:WSCO>MBC>DOC>ROC。SMZ 添加后对土壤活性有机碳的影响大于 OTC。当 OTC 和 SMZ 处理浓度分别达 $100\sim 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $50\sim 100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,直至培养末期土壤仍处于轻度污染,而当 OTC 和 SMZ 处理浓度分别低于 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,土壤污染程度较低,能够进行自我修复。

参考文献:

- [1] 国 彬,姚丽贤,刘忠珍,等.广州市兽用抗生素的环境残留研究[J].农业环境科学学报,2011,30(5):938-945.
GUO Bin, YAO Li-xian, LIU Zhong-zhen, et al. Environmental residues of veterinary antibiotics in Guangzhou City, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(5):938-945.
- [2] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A B A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment[J]. *Chemosphere*, 2006, 65(5):725-759.
- [3] Karcı A, Balcıoğlu I A. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey[J]. *Science of the Total Environment*, 2009, 407(16):4652-4664.
- [4] 尹春艳,骆永明,滕 应,等.典型设施菜地土壤抗生素污染特征与积累规律研究[J].环境科学,2012,33(8):2810-2816.
YIN Chun-yan, LUO Yong-ming, TENG Ying, et al. Pollution characteristics and accumulation of antibiotics in typical protected vegetable soils[J]. *Environmental Sciences*, 2012, 33(8):2810-2816.
- [5] Kim K R, Owens G, Kwon S I, et al. Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2011, 214(1-4):163-174.
- [6] Liu F, Tao R, Ying J F, et al. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities[J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157(5):1636-1642.
- [7] Gao Y H, Sun X S, Sun Z J, et al. Toxic effects of enrofloxacin on growth rate and catalase activity in *Eisenia fetida*[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2008, 26(2):177-180.
- [8] Aldén L, Bååth E, Greve G, et al. Effects of sulfamethoxazole on soil microbial communities after adding substrate[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(4):840-848.
- [9] Qualls R G, Haines B L. Geochemistry of dissolved organic nutrients in water percolating through a forest ecosystem[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1991, 55(4):1112-1123.
- [10] Liang B C, MacKenzie A F, Schnitzer M, et al. Management-induced change in labile soil organic matter under continuous corn in eastern Canadian soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1997, 26(2):88-94.
- [11] 张培平,曹凌贵,李 苹,等.藏中矿区重金属污染对土壤微生物学特性的影响[J].农业环境科学学报,2010,29(4):698-704.
ZHANG Fu-ping, CAO Cou-gui, LI Ping, et al. Effects of heavy metal pollution on microbial characteristics mine soils in central Tibet[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(4):698-704.
- [12] 谯兴国,李法云,张 营,等.冻融作用对石油污染土壤酶活性和水溶性碳的影响[J].农业环境科学学报,2008,27(3):914-919.
QIAO Xing-guo, LI Fa-yun, ZHANG Ying, et al. The Effect of freezing and thawing on enzyme activity and dissolved organic carbon in petroleum contaminated soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3):914-919.
- [13] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000:30-34, 42-49, 71-83, 373-375.

- BAO Shi-dan. Methods for soil agro-chemical analysis[M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000:30-34, 42-49, 71-83, 373-375.
- [14] Vance E D, Brookes P C, Jenklmon D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(6):703-707.
- [15] Blair G J, Lefroy R D B, Lisle L. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems[J]. *Crop and Pasture Science*, 1995, 46(7):1459-1466.
- [16] Jones D L, Willett V B. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen(DON) and dissolved organic carbon(DOC) in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5):991-999.
- [17] 郝瑞军, 李忠佩, 车玉萍. 冻融交替对水稻土水溶性有机碳含量及有机碳矿化的影响[J]. 土壤通报, 2007, 38(6):1052-1057.
- HAO Rui-jun, LI Zhong-pei, CHE Yu-ping. Effects of freezing and thawing cycles on the contents of WSOC and the organic carbon mineralization in paddy soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2008, 38(6):1052-1057.
- [18] 李永涛, 戴军, Thierry Becquer, 等. 不同形态有机碳的有效性在两种重金属污染水平下水稻土壤中的差异[J]. 生态学报, 2006, 26(1):138-145.
- LI Yong-tao, DAI Jun, Thierry Becquer, et al. Availability of different organic carbon fractions of paddy soils under two heavy metal contamination levels[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(1):138-145.
- [19] 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.
- YAO Jian-hua, NIU De-kui, LI Zhao-jun, et al. Effects of antibiotics oxytetracycline on soil enzyme activities and microbial biomass in wheat rhizosphere[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(4):721-728.
- [20] 刘爱菊, 刘敏, 李梦红, 等. Cu、抗生素协同污染对土壤微生物活性的影响[J]. 生态环境学报, 2013, 22(11):1825-1829.
- LIU Ai-ju, LIU Min, LI Meng-hong, et al. Collaborative effects of Cu and antibiotic on soil microbial activities[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2013, 22(11):1825-1829.
- [21] Yang Q X, Zhang J, Zhu K F, et al. Influence of oxytetracycline on the structure and activity of microbial community in wheat rhizosphere soil[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21(7):954-959.
- [22] Haller M Y, Müller 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):111-120.
- [23] Hammesfahr U, Heuer H, Mancke 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.
- [24] Anderson T H, Domsch K H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1989, 21(4):471-479.
- [25] Guggenberger G, Elliott E T, Frey S D, et al. Microbial contributions to the aggregation of a cultivated grassland soil amended with starch[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31(3):407-419.
- [26] 李忠佩, 张桃林, 陈碧云. 可溶性有机碳的含量动态及其与土壤有机碳矿化的关系[J]. 土壤学报, 2004, 41(4):544-552.
- LI Zhong-pei, ZHANG Tao-lin, CHEN Bi-yun. Dynamics of soluble organic carbon and its relation to mineralization of soil organic carbon[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(4):544-552.
- [27] Blair G J, Lefroy R D B, Lisle L. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems[J]. *Crop and Pasture Science*, 1995, 46(7):1459-1466.
- [28] 尹燕东, 裴立群, 魏珉, 等. 温室 CO₂ 施肥对黄瓜幼苗根系生长及分泌物和伤流液组成的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(7):1860-1867.
- YIN Yan-dong, QIU Li-qun, WEI Min, et al. Effects of CO₂ enrichment in green house on root growth as well as root exudates and bleaching sap of cucumber seedlings[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(7):1860-1867.
- [29] Thorburn P J, Meier E A, Collins K, et al. Changes in soil carbon sequestration, fractionation and soil fertility in response to sugarcane residue retention are site-specific[J]. *Soil and Tillage Research*, 2012, 120:99-111.
- [30] Antoniadis V, Alloway B J. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils[J]. *Environmental Pollution*, 2002, 117(3):515-521.
- [31] Marschner B, Kalbitz K. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils[J]. *Geoderma*, 2003, 113(3):211-235.
- [32] Tolls J. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review[J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(17):3397-3406.
- [33] Thiele S. Adsorption of the antibiotic pharmaceutical compound sulfapyridine by a long-term differently fertilized loess Chernozem[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000, 163(6):589-594.
- [34] Avisar D, Primor O, Gozlan I, et al. Sorption of sulfonamides and tetracyclines to montmorillonite clay[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2010, 209(1-4):439-450.
- [35] 王冉, 刘铁铮, 耿志明, 等. 兽药磺胺二甲嘧啶在土壤中的生态行为[J]. 土壤学报, 2007, 44(2):307-311.
- WANG Ran, LIU Tie-zheng, GENG Zhi-ming, et al. Ecotoxicology and ecological behavior of sulfamethazine in soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44(2):307-311.
- [36] Halling-Sørensen B, Sengeløv G, Ingerslev F, et al. Reduced antimicrobial potencies of oxytetracycline, tylosin, sulfadiazine, streptomycin, ciprofloxacin, and olaquinox due to environmental processes[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 44:7-16.