

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 21 期 Vol.33 No.21 **2013**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 21 期 2013 年 11 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 生态系统生产总值核算:概念、核算方法与案例研究..... 欧阳志云,朱春全,杨广斌,等 (6747)
- 气候变化对传染病爆发流行的影响研究进展..... 李国栋,张俊华,焦耿军,等 (6762)
- 好氧甲烷氧化菌生态学研究进展 负娟莉,王艳芬,张洪勋 (6774)
- 氮沉降强度和频率对羊草叶绿素含量的影响..... 张云海,何念鹏,张光明,等 (6786)
- 世界蜘蛛的分布格局及其多元相似性聚类分析..... 申效诚,张保石,张 锋,等 (6795)
- 风向因素对转基因抗虫棉花基因漂移效率的影响..... 朱家林,贺 娟,牛建群,等 (6803)

个体与基础生态

- 长江口及东海春季底栖硅藻、原生动物和小型底栖生物的生态特点 孟昭翠,徐奎栋 (6813)
- 长江口横沙东滩围垦潮滩内外大型底栖动物功能群研究..... 吕巍巍,马长安,余 骥,等 (6825)
- 沔阳沿岸土壤和优势植物重金属富集特征和潜在生态风险..... 杨 阳,周正朝,王欢欢,等 (6834)
- 盐分和底物对黄河三角洲区土壤有机碳分解与转化的影响..... 李 玲,仇少君,檀菲菲,等 (6844)
- 短期夜间低温胁迫对秋茄幼苗碳氮代谢及其相关酶活性的影响..... 郑春芳,刘伟成,陈少波,等 (6853)
- 32 个切花菊品种的耐低磷特性 刘 鹏,陈素梅,房伟民,等 (6863)
- 年龄和环境条件对泥蚶富集重金属镉和铜的影响..... 王召根,吴洪喜,陈肖肖,等 (6869)
- 角倍蚜虫瘿对盐肤木光合特性和总氮含量的影响..... 李 杨,杨子祥,陈晓鸣,等 (6876)
- 多噬伯克霍尔德氏菌 WS-FJ9 对草甘膦的降解特性 李冠喜,吴小芹,叶建仁 (6885)
- 金龟甲对蓖麻叶挥发物的触角电位和行为反应..... 李为争,杨 雷,申小卫,等 (6895)

种群、群落和生态系统

- 白洋淀生态系统健康评价..... 徐 菲,赵彦伟,杨志峰,等 (6904)
- 珠海鹤洲水道沿岸红树林湿地大型底栖动物群落特征 王 卉,钟 山,方展强 (6913)
- 典型森林和草地生态系统呼吸各组分间的相互关系..... 朱先进,于贵瑞,王秋凤,等 (6925)
- 抚育间伐对油松人工林下大型真菌的影响..... 陈 晓,白淑兰,刘 勇,等 (6935)
- 百山祖自然保护区植物群落 beta 多样性 谭珊珊,叶珍林,袁留斌,等 (6944)
- 土霉素对堆肥过程中酶活性和微生物群落代谢的影响..... 陈智学,谷 洁,高 华,等 (6957)

景观、区域和全球生态

- 兴安落叶松针叶解剖结构变化及其光合能力对气候变化的适应性 季子敬,全先奎,王传宽 (6967)
- 盐城海滨湿地景观演变关键土壤生态因子与阈值研究..... 张华兵,刘红玉,李玉凤,等 (6975)

半干旱区沙地芦苇对浅水位变化的生理生态响应 马赞花,张铜会,刘新平 (6984)

SWAT 模型融雪模块的改进 余文君,南卓铜,赵彦博,等 (6992)

科尔沁沙地湖泊消涨对气候变化的响应..... 常学礼,赵学勇,王 玮,等 (7002)

贝壳堤岛 3 种植被类型的土壤颗粒分形及水分生态特征..... 夏江宝,张淑勇,王荣荣,等 (7013)

三峡库区古夫河着生藻类叶绿素 a 的时空分布特征及其影响因素..... 吴述园,葛继稳,苗文杰,等 (7023)

资源与产业生态

煤炭开发对矿区植被扰动时空效应的图谱分析——以大同矿区为例..... 黄 翌,汪云甲,李效顺,等 (7035)

学术信息与动态

《中国当代生态学研究》新书推介 刘某承 (7044)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 300 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 30 * 2013-11



封面图说: 百山祖保护区森林植物群落——百山祖国家级自然保护区位于浙西南闽浙交界处,由福建武夷山向东北伸展而成,主峰海拔 1856.7m,为浙江省第二高峰。其独特的地形和水文地理环境形成了中亚热带气候区中一个特殊的区域,保存着十分丰富的植物种质资源以及国家重点保护野生动植物种,尤其是 1987 年由国际物种保护委员会列为世界最濒危的 12 种植物之一的百山祖冷杉,是第四纪冰川的孑遗植物,素有“活化石”之称。随着海拔的升高,其植被为常绿阔叶林、常绿-落叶阔叶混交林、针阔混交林、针叶林、山地矮林和山地灌草丛。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@ 163.com

DOI: 10.5846/stxb201207090961

陈智学, 谷洁, 高华, 王小娟, 陈琳, 胡婷. 土霉素对堆肥过程中酶活性和微生物群落代谢的影响. 生态学报, 2013, 33(21): 6957-6966.

Chen Z X, Gu J, Gao H, Wang X J, Chen L, Hu T. Effect of Oxytetracycline (OTC) on the activities of enzyme and microbial community metabolic profiles in composting. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(21): 6957-6966.

土霉素对堆肥过程中酶活性和微生物群落代谢的影响

陈智学¹, 谷洁^{2,*}, 高华², 王小娟², 陈琳¹, 胡婷²

(1. 西北农林科技大学理学院, 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学资源与环境学院, 杨凌 712100)

摘要:以猪粪和秸秆为试验材料,研究了土霉素对堆肥温度、种子发芽指数、C/N、纤维素酶、脲酶、过氧化氢酶以及微生物群落代谢的影响。结果表明, 0 mg/kg (对照处理)的堆肥在第 2 天上升到 50 ℃ 以上, 维持了 5 d, 达到了无害化处理的要求。35 mg/kg 土霉素处理(A1 处理)第 4 天升到 51.0 ℃, 其高温期维持了 1 d。70 mg/kg 土霉素处理(A2 处理)第 3 天升到 50 ℃ 以上, 高温期维持了 2 d。105 mg/kg 土霉素处理(A3 处理)和 140 mg/kg 土霉素处理(A4 处理)的温度在整个堆肥期间均未达到 50 ℃。在堆肥结束时各个处理的种子发芽指数均达到 80% 以上。CK(对照处理)、A1、A2、A3 和 A4 处理的 C/N 由 34.50 分别降为 16.64、16.07、19.48、18.45 和 19.83。堆肥的第 1 天, A1、A2、A3 和 A4 处理对纤维素酶活性的抑制率分别为 60.30%、21.30%、48.81% 和 76.05%, 第 3 天, 土霉素对纤维素酶活性起促进作用, 在 4—30 d, A3、A4 处理对纤维素酶活性有抑制作用。在堆肥的前期(1—3 d), 土霉素刺激脲酶活性, 随着堆肥时间的延长, 土霉素对脲酶活性由刺激变为抑制作用, 在第 18—30 天 A3、A4 处理与 CK 相比有着显著的抑制作用。在堆肥第 1 天到第 18 天, 土霉素基本上促进过氧化氢酶的活性, 堆肥 18 d 之后土霉素对过氧化氢酶起着抑制作用。用 Biolog (ECO Microplate)方法研究了土霉素对堆肥过程中微生物群落代谢的影响, 结果表明, 在升温期 CK 处理的平均颜色变化率 AWCD (Average Well Color Development)在培养 60 h 之后大于其他处理, 高温期 A2 处理的 AWCD 值最高, 在降温期 CK 的 AWCD 值一直是最高。对 Shannon 指数进行分析显示, 堆肥的初始阶段土霉素降低微生物群落的功能多样性, 随着时间的延长, 土霉素增加微生物群落的功能多样性。对微生物利用六大类碳源分析表明, 140 mg/kg 的土霉素浓度能够改变微生物利用碳源的种类。

关键词:土霉素;堆肥;酶活性;微生物群落

Effect of Oxytetracycline (OTC) on the activities of enzyme and microbial community metabolic profiles in composting

CHEN Zhixue¹, GU Jie^{2,*}, GAO Hua², WANG Xiaojuan², CHEN Lin¹, HU Ting²

¹ College of Sciences, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China

² College of Natural Resources and Environment, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China

Abstract: An outdoor experiment was conducted to study the effect of oxytetracycline addition on composting temperature, seed germination index, ratio of carbon to nitrogen, cellulase, urease, catalase and microbial community metabolism during composting of pig manure mixed with wheat straw. The results showed that composting temperature was reached to 50 ℃ in the second day of composting and lasted for 5 days on treatment without addition of oxytetracycline (Control check, CK), which could meet the need of the requirement of harmlessness. The composting temperature was above 51.0 ℃ in the fourth day of composting with addition of 35 mg/kg oxytetracycline (A1 treatment), and the high temperature period maintained for 1 day. The temperature was above 50 ℃ in the third day of composting where 70 mg/kg oxytetracycline was added (A2 treatment), and the high temperature period only hold on for 2 days. The temperature could not reach to 50 ℃ over the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(40871119, 41171203);农业部 948 资助项目(2010-Z20)

收稿日期:2012-07-09; **修订日期:**2013-02-27

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gujoyer@sina.com

whole time of composting on both A3 and A4 treatments where 105 mg/kg and 140 mg/kg of oxytetracycline were spiked respectively. The germination indices (*GI*) of seeds, which contained in the compost materials, were higher than 80% for all treatments at the end of the composting. The C/N ratios for all treatments were decreased from an initial value of 34.50 to 16.64, 16.07, 19.48, 18.45 and 19.83, respectively, when composting completed. Activities of cellulose on treatments those receiving oxytetracycline were inhibited by 60.30%, 21.30%, 48.81% and 76.05%, respectively, over CK treatment in the first day of the composting, and they were increased in the third day. Nevertheless, activities of cellulase were inhibited under A3 and A4 treatments compared with CK from day 4 to day 30. The activity of urease was increased by addition of oxytetracycline in the first 3 days, since then on, it was decreased. The higher concentrations of oxytetracycline (A3 and A4) had a significant inhibitory effect on activity of urease from day 18 to day 30. The catalase activity was enhanced generally by the addition of oxytetraeyeline from day 1 to day 18 compared to CK, from then on it was decreased over CK. The effect of oxytetracycline addition on microbial community metabolic profiles during composting was assayed with Biolog (ECO Microplate) method. The results showed that AWCD (Average Well Color Development) values of CK treatment were the highest after 60 h incubation during temperature raising period of the compost. The highest AWCD values were observed on A2 treatment during the high temperature period. AWCD values under CK were greater than other treatments over cooling period. Shannon index results suggested that the oxytetracycline addition could reduce the functional diversity of microbial communities in the initial stage of the composting, in contrast, it could increase the functional diversity of microbial communities at other stages of composting. The carbon source utilization data showed that the addition of 140 mg/kg of oxytetracycline could significantly change the types of carbon sources used by microorganisms.

Key Words: oxytetraeyeline; composting; enzymatic activities; microbial community

随着集约化程度的提高和生产规模的扩大,我国养殖业产生的畜禽粪便已经对自然环境造成了严重的污染,成为制约集约化养殖业发展的主要问题之一^[1]。抗生素具有促生长和杀菌作用,被很多国家广泛用于畜牧业,导致大量未被吸收的抗生素在畜禽粪便中残留^[2-4]。堆肥作为一种集粪便处理和资源再生利用于一体的生物处理方法,有生产成本低、生产过程不对环境造成二次污染、产品肥效较长、改良土壤等优点,在国内外受到了广泛的关注。

堆肥过程中的物质转化主要是在酶参与下进行的酶促反应,包括有机物的分解与合成,有机物的分解过程是水解酶类起催化作用的生物化学反应^[5];土壤中合成新的稳定的有机化合物的过程是氧化还原酶起催化作用的生物化学反应^[6]。目前,人们对畜禽粪便堆腐的研究,主要集中在堆腐条件的控制和一些重金属对堆腐过程的影响^[7-10],没有对堆腐过程中抗生素对酶活性及微生物群落多样性变化进行研究。我国已有 17 种抗生素、抗氧化剂、激素类药物用于饲喂畜禽,其中四环素类最多。四环素类抗生素主要有 3 种,即土霉素 (Oxytetracycline, OTC)、四环素 (Tetracycline, TC) 和金霉素 (Chlortetracycline, CTC),约占抗生素总量的 57%^[11]。张树清的研究结果表明,32 个猪粪样品中,土霉素、四环素、金霉素平均含量分别为 9.09、5.22、3.57 mg/kg^[12],其中土霉素的含量在 1.05—134.75 mg/kg。本试验通过露天堆肥的方式研究土霉素对堆肥过程中微生物群落功能多样性和酶活性的影响,旨在揭示土霉素在堆肥过程中的微生态效应。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验用的土霉素购自 Sigma 公司,纯度为 98%。以农家养殖厂猪粪、秸秆为堆肥材料,原材料的基本性质见表 1。

1.2 试验设计

堆肥试验于 2011 年 11 月 3 日至 2011 年 12 月 4 日在西北农林科技大学资环学院堆腐试验场进行,堆肥为露天堆肥。把长约 3—5 cm 的小麦秸秆与猪粪混合,每个堆体添加猪粪 80 kg,秸秆 43 kg,使每个堆体的

C/N(碳氮比)为 34.50,加水调节含水率至 65%^[13],最后形成直径约 1.5 m,高约 1m 的圆锥形堆体。实验设 5 个处理,根据张树清对 7 个省、市、自治区的规模化养殖场猪粪中土霉素的含量的测定结果(土霉素的含量在 1.05—134.75 mg/kg)^[12],分别添加土霉素的量(占猪粪干重的比例)如下:0 mg/kg(对照处理 CK)、35 mg/kg(A1)、70 mg/kg(A2)、105 mg/kg(A3)、140 mg/kg(A4)。分别于第 1、3、5、8、11、18 和 30 天在堆体多点采集样品,混匀,4℃冰箱冷藏,用于堆料酶活性和微生物群落代谢的测定。

表 1 堆肥所用原材料的基本性质(烘干样)

Table 1 Physical and chemical properties of raw materials for composting (oven-dried base)

试验材料 Material	全碳 Total C /(g/kg)	全氮 Total N /(g/kg)	全磷 Total P /(g/kg)	全钾 Total K /(g/kg)	碳氮比 Ratio of carbon to nitrogen (C/N)	土霉素 Oxytetracycline (OTC)/(mg/kg)
猪粪 Pig manure	393.12	23.20	12.31	14.70	16.94	9.80
秸秆 Wheat straw	408.70	6.11	1.32	22.50	66.89	0

1.3 项目测定与方法

1.3.1 堆肥过程中温度的测定

每天 10:00、17:00 测定堆肥温度,每个堆体插入 3 个温度计,以上、下午两次温度的平均值作为当天堆体的温度。

1.3.2 种子发芽指数的测定。

样品与蒸馏水按 1:10 比例充分混合,取 10 mL 滤液以 3 000 r/min 离心 10 min,吸取 5 mL 上清液于铺有滤纸的培养皿中,放置 10 粒上海青种子,用蒸馏水作为对照,25℃黑暗条件下培养 5 d,计算种子的发芽率,并用游标卡尺测量种子的根长。根据下列公式,计算种子的发芽指数(GI):

$$GI = \frac{\text{试验样种子发芽率} \times \text{种子根长}}{\text{对照种子发芽指数} \times \text{对照样种子根长}}。$$

1.3.3 堆肥过程中酶活性的测定

酶活性测定参照关松荫的方法^[14]。测定葡萄糖生成量以表征纤维素酶活性,单位为 mg 葡萄糖·g⁻¹·d⁻¹表示。测定氨的生成量以表征脲酶活性,单位用 mg NH₃-N·g⁻¹·d⁻¹表示。测定高锰酸钾的消耗量以表征过氧化氢酶活性,单位用 0.001mol/L KMnO₄·g⁻¹·20min⁻¹表示。

1.3.4 堆肥不同时期微生物群落功能多样性测定

本试验微生物群落功能多样性采用 Biolog 生态测试板测定。具体操作步骤如下:分别从第 1 天(升温期)、第 5 天(高温期)、第 11 天(降温期)的各个处理堆肥中部多点取样,混合后取 5 g 堆肥样品(干重计算),加入装有 45 mL 无菌生理盐水的三角瓶中,160 r/min 振荡 1 h,静置片刻后取上清液,将其用 0.85% 氯化钠无菌生理盐水稀释至 10⁻³倍。在超净工作台上,接种微生物悬浮液于 ECO 微平板中,每孔 150 μL。将接种的 ECO 板装入聚乙烯盒中置于 28℃ 暗箱中培养,连续培养 240 h,每 12 h 在 ELISA(Enzyme-linked Immunosorbent Assay,酶联免疫吸附测定)微平板读数器上读数一次以采集数据^[15]。

1.4 数据处理

平均每孔颜色变化率(AWCD)的计算公式为:AWCD = $\sum (C_i - R) / 31$,式中,C_i为各反应孔在 590 nm 下的光密度值;R 为 ECO 板对照孔 A1 的光密度值;C_i-R 小于零的孔,计算中记为零,即:C_i-R ≥ 0。选取 96 h 的 ECO 板的读数结果,对其进行微生物群落多样性分析,微生物群落 Shannon 指数(H): $H = - \sum P_i \times \ln P_i$,式中 P_i = (C_i - R) / $\sum (C_i - R)$,表示有碳源的孔与对照孔 A1 的光密度值之差与整板总差的比值。

数据的统计分析采用 Excel(V 2003)、SPSS(16.0)软件完成。

2 结果与分析

2.1 堆肥过程中温度的变化

温度的高低是决定堆肥成败的关键^[16],根据《农业废弃物无害化处理标准》规定:在 50—55 ℃ 以上持续 5—7 d(或 55 ℃ 条件下保持 3 d 以上)可杀灭病原微生物,实现无害化。由表 2 可见,CK 处理堆肥在第 2 天上升到 50.7 ℃,第 4 天到达最高温度 52.7 ℃,高温期维持了 5 d,达到了无害化处理的要求。A1 处理第 4 天升到 51.0 ℃且仅维持了 1d。A2 处理第 3 天升到 50 ℃以上,最高温度 52.0 ℃出现在第 4 天,高温仅维持 2d。A3 处理的温度在整个堆肥期间均未达到 50 ℃,最高温度 47.2 ℃ 出现在第 4 天。A4 处理的温度没有一天达到 50 ℃。第 5 天之后,各个处理的温度差异不大,这可能由于在前期土霉素杀死某些微生物,呈现出抑制效应^[17],随着时间的延续,环境会产生抗性种群^[18],增加堆料中微生物的代谢活性,导致温度恢复到正常水平。

表 2 堆肥过程中温度的变化

Table 2 Variations of temperature during the composting process

处理 Treatment	到 50℃ 所需时间 The time need for up to 50 ℃/h	升温速率 Heating rate /(℃/h)	高温持续的时间/d The duration of the high temperature	最高温度 Highest temperature/℃	最高温度的时间/d Time of the highest temperature
CK	48	1.06	2—6	52.74±0.25a	第 4 天
A1	96	0.53	第 4 天	51.00±0.50c	第 4 天
A2	72	0.71	3—4	52.00±0.50b	第 4 天
A3	—	—	—	47.20±0.41e	第 4 天
A4	—	—	—	49.20±0.21d	第 6 天

数值为平均值±标准差(mean±SD), $n=6$;同一列数据中不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$);—: 未能达到标准

2.2 堆肥腐熟指标

种子发芽指数(GI)被认为是最敏感、最可靠的堆肥腐熟度评价指标。一般认为,当 GI 大于 80%时,就可以判断堆肥腐熟^[19]。由表 3 可见,在堆肥结束时,A3 和 A4 处理的种子发芽指数分别是 78.48% 和 70.68%,表明土霉素的浓度过高会对堆肥的品质造成较大的影响。CK 的 pH 值最高,为 8.78,A4 处理的 pH 值最低,为 8.56。CK、A1、A2、A3 和 A4 处理的 C/N 由初始的 34.50 分别降为 16.64、16.07、19.48、18.45 和 19.83,说明经过堆肥化处理后,使得 C/N 下降。

表 3 堆肥腐熟指标

Table 3 Compost maturity indicators

处理 Treatment	发芽指数(GI)/% Germination index	C/N	pH
CK	89.47±0.13a	16.64±1.12bc	8.78±0.04a
A1	90.23±2.57a	16.07±1.31c	8.74±0.03a
A2	82.65±1.72b	19.48±1.39a	8.75±0.03a
A3	78.48±0.99c	18.45±1.06ab	8.71±0.07a
A4	70.68±1.82d	19.83±0.96a	8.56±0.04b

数值为平均值±标准差(mean±SD), $n=3$;同一列数据中不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

2.3 堆肥期间不同土霉素浓度对酶活性的影响

堆肥过程中物质转化是在酶参与下进行的酶促反应过程^[20]。土霉素通过影响环境中微生物的种类与数量,进而对酶的分泌造成影响。

2.3.1 堆肥过程纤维素酶活性的变化

纤维素酶参与碳的循环^[21]。从表 4 看出,纤维素酶活性随时间呈双峰曲线,在第 1 天,添加土霉素处理纤维素酶活性显著低于 CK($P<0.05$),A1、A2、A3 和 A4 处理对纤维素酶活性的抑制率分别为 60.30%、21.30%、48.81% 和 76.05%。随着时间的延续,纤维素酶活性迅速增加,导致 A1 处理与 CK 的纤维素酶活性

在第 3 天和第 5 天差异不显著。可能的原因是初期低浓度的土霉素对微生物分泌纤维素酶的活性有抑制作用,之后由于土霉素不断的降解^[22],导致对纤维素酶的影响不大。对于 A2 和 A3 处理而言,土霉素对纤维素酶活性的影响比较复杂,可能由于随着堆肥时间的延长,土霉素抑制微生物的活性与作为营养物质刺激一些抗性微生物的活性共同作用^[18]。A4 处理的纤维素酶活性在第 3 天之后处于一个低的水平,可见经过前期土霉素的毒性作用,140 mg/kg 土霉素处理对能够分泌纤维素酶的微生物有着抑制作用。

表 4 堆肥过程中纤维素酶活性变化/(mg 葡萄糖·g⁻¹·d⁻¹)

Table 4 Variations of cellulase during the composting process

处理 Treatment	第 1 天 First day	第 3 天 Third day	第 5 天 5 th day	第 8 天 8 th day	第 11 天 11 th day	第 18 天 18 th day	第 30 天 30 th day
CK	6.71±1.01 a	7.07±1.04 c	16.46±2.50 a	11.46±2.23 a	15.87±0.94 a	24.33±1.22 a	20.00±1.58 a
A1	2.68±0.51 c	8.67±1.13 bc	15.87±1.27 ab	13.86±1.32 b	13.91±0.25 b	23.60±1.32 a	21.02±1.92 a
A2	4.67±0.9 b	10.24±1.05 b	14.97±1.99 ab	11.29±1.29 a	13.71±0.46 b	27.45±2.24 a	19.85±0.44 a
A3	3.39±0.62 c	10.17±0.6 b	13.42±0.72 b	11.84±0.44 a	15.54±1.23 a	15.96±1.30 b	15.75±0.73 b
A4	1.61±0.32 d	13.26±1.71 a	9.87±1.23 c	10.88±1.27 a	10.07±0.46 c	15.69±0.70 c	10.31±2.37 c

数值为平均值±标准差(mean±SD), n=3; 同一列数据中不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)

2.3.2 堆肥过程脲酶活性的变化

脲酶与氮代谢密切相关^[23]。由表 5 可见,脲酶活性随时间也呈双峰曲线变化,但 A3 和 A4 处理变化不明显。原因可能是堆肥初期原料中有机质含量高、营养丰富,促进了耗氧微生物生长和酶的合成,使酶活逐渐增至最大值^[24]。由于高温的持续作用,微生物的数量和活性受到抑制,酶活性下降。谷洁研究发现在一定的温度期间堆料中脲酶活性变化与温度变化具有负相关关系^[25],随着温度的下降,堆料里的微生物种群又开始活跃起来,在堆肥的第 18 天又达到一个高峰。经过有机物质的快速降解阶段(0—25 d)^[26],能量不足造成酶活性逐渐降低。

从表中还可以看出,在 1—3 d 添加土霉素处理脲酶活性比 CK 高,这与姚志鹏结果一致^[27]。尽管土霉素对一些具有分泌脲酶功能的微生物有毒害作用,但即使这样,由于土霉素具有酰胺键结构,而脲酶以酰胺键作为底物,根据底物诱导原理,导致在堆肥前期土霉素对脲酶活性的正效应大于负效应。在堆肥的第 5 天,所有处理脲酶活性均达到最高值,处理之间差异不显著。随着时间的再延续,高浓度和极高浓度的土霉素对脲酶活性的抑制效应越来越明显,从第 18 天和第 30 天数据来看,A3 和 A4 处理脲酶活性与 CK 相比已下降至显著水平。而低浓度和中浓度土霉素未对堆料中脲酶活性产生显著的影响(P>0.05)。这是由于堆肥后期,超过一定浓度的土霉素的积累毒害作用,导致微生物的密度降低,进而分泌脲酶的微生物比 CK 要少。

表 5 堆肥过程中脲酶活性变化/(mg NH₃-N·g⁻¹·d⁻¹)

Table 5 Variations of urease during the composting process

处理 Treatment	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 8 天	第 11 天	第 18 天	第 30 天
CK	4.64±1.21 b	8.75±0.27 a	31.32±6.51 a	11.46±2.23 a	15.87±0.94 a	24.33±1.22 a	20.00±1.58 a
A1	7.02±2.19 a	8.55±1.06 a	29.98±1.67 a	13.86±1.32 b	13.91±0.25 b	23.60±1.32 a	21.02±1.92 a
A2	5.21±0.38 ab	10.34±3.61 a	28.65±2.90 a	11.29±1.29 a	13.71±0.46 b	27.45±2.24 a	19.85±0.44 a
A3	7.24±1.16 a	20.73±5.7 b	27.81±2.83 a	11.84±0.44 a	15.54±1.23 a	15.96±1.30 b	15.75±0.73 b
A4	5.84±0.8 ab	10.16±3.01 a	28.28±4.89 a	10.88±1.27 a	10.07±0.46 c	15.69±0.70 c	10.31±2.37 c

数值为平均值±标准差(mean±SD), n=3; 同一列数据中不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)

2.3.3 堆肥过程过氧化氢酶活性的变化

过氧化氢酶的活性与有机质的含量有关,与微生物数量也有关^[13]。由表 6 可见,在第 1 天土霉素对过氧化氢酶活性有激活作用,A1、A2、A3 处理与 CK 差异显著(P<0.05),原因可能是一些微生物针对一定浓度的

土霉素毒害作用的胁迫,需要分泌更多的过氧化氢酶^[28],极高浓度土霉素的杀菌作用对过氧化氢酶活性产生的负效应与土霉素的胁迫产生的正效应相互作用造成 A4 处理与 CK 差异不显著。随着堆肥时间的延续,土霉素基本上是激活过氧化氢酶。在堆肥后期 CK 过氧化氢酶活性为 75.00 mL 0.001mol/L KMnO₄·g⁻¹·20min⁻¹,显著高于其它处理($P<0.05$),是由于堆料中的微生物对药物适应能力增强,土霉素的毒害作用减弱,同时土霉素的降解作用^[22],导致分泌的过氧化氢酶减少^[28]。

表 6 堆肥过程中过氧化氢酶的变化/(mL 0.001mol/L KMnO₄·g⁻¹·20min⁻¹)

Table 6 Variations of catalase during the composting process							
处理 Treatment	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 8 天	第 11 天	第 18 天	第 30 天
CK	81.15±3.50c	114.3±2.40b	123.5±4.21b	127.94±6.71b	119.38±2.73c	142.54±2.99bc	75.00±6.81a
A1	99.75±3.61a	110.3±2.32c	116.6±5.61c	121.41±7.50b	143.67±2.28a	129.96±1.32d	62.09±3.65bc
A2	91.37±2.72b	117.5±1.21b	138.0±4.30a	124.18±4.52b	124.02±1.89b	151.37±2.24 a	64.89±4.03b
A3	94.6±5.21ab	127.3±1.01a	117.0±1.78bc	129.03±6.24b	137.48±0.54a	135.85±1.48cd	56.65±2.26d
A4	83.79±3.98c	100.0±1.42d	122.0±2.08bc	141.00±3.18a	139.01±1.74a	143.07±3.89b	59.63±2.03cd

数值为平均值±标准差(mean±SD),n=3; 同一列数据中不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

2.4 堆肥期间土霉素对微生物群落功能多样性的影响

2.4.1 ELISA 平均颜色变化率(AWCD)

AWCD 反映微生物对碳源的利用率,AWCD 值越大,表明堆料中微生物的活性越高,密度越大^[29]。由图 1 可见,在升温期,CK 的 AWCD 值在培养 60 h 后大于其他处理,表明升温期土霉素能够降低微生物活性。

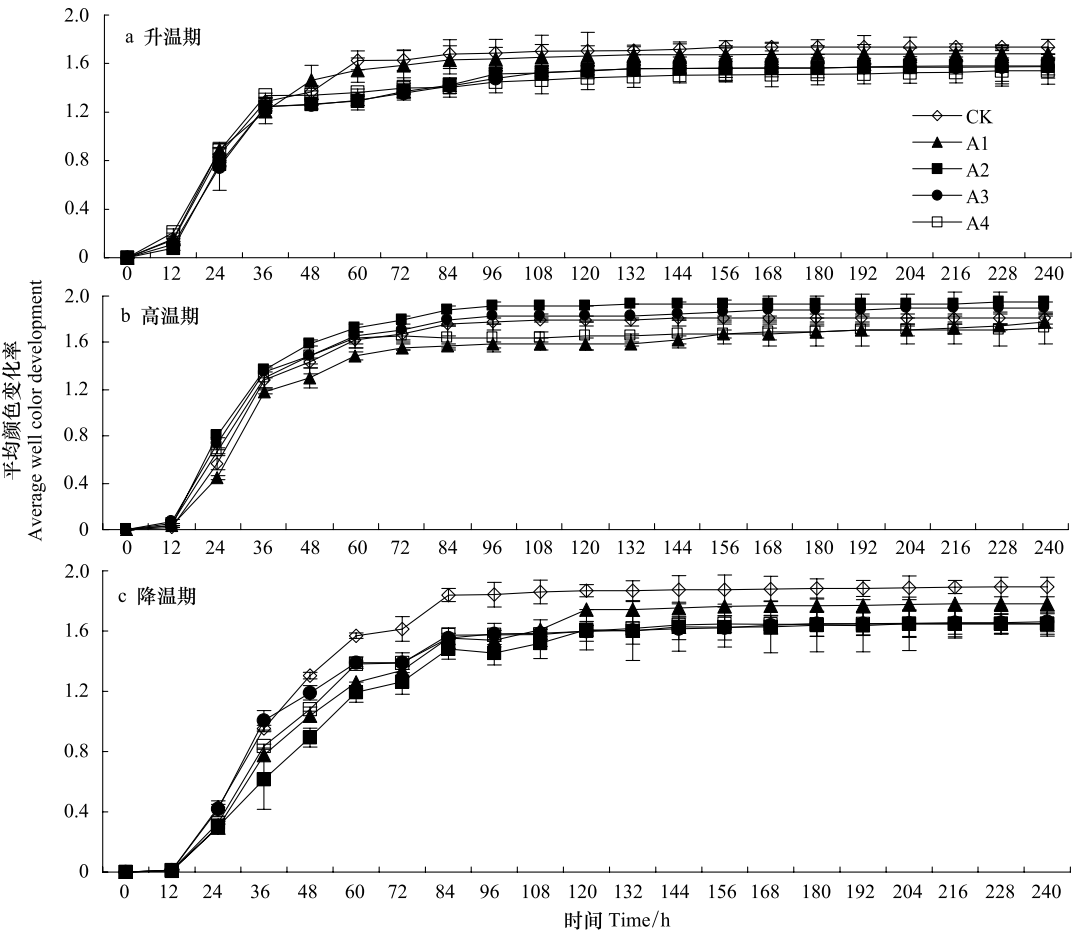


图 1 不同时期不同处理平均颜色变化率 AWCD 随培养时间的变化

Fig.1 AWCD changes with incubation time in different treatments during different periods

在高温期,A2 处理的 AWCD 值在整个培养过程高于其它的处理,可能是随着时间的增加,环境会产生抗性种群^[18],对 AWCD 值产生正的效应,同时土霉素的毒害作用对 AWCD 值产生负的效应^[17],两者相互作用使得在土霉素浓度占猪粪的比例为 70 mg/kg 时堆料的微生物活性最高。在降温期,CK 的 AWCD 值始终是最高的,在 AWCD 值趋于稳定之后(108 h 之后),土霉素的浓度越高,AWCD 值越低,表明在堆肥的后期,抗性微生物的大量死亡,造成微生物的密度较低。

2.4.2 微生物群落多样性指数分析

Shannon 多样性指数表示在颜色变化率一致的情况下,整个堆料微生物群落利用碳源类型的多与少,即功能多样性^[30],Shannon 多样性指数越大,表明该堆料微生物系统的功能多样性越高。本试验采用 Biolog 微平板培养 96 h 的数据来进行微生物群落功能多样性分析。

在表 7 中,在升温期 CK 的 Shannon 指数最高,和 A2、A3 和 A4 处理差异显著($P<0.05$);在高温期 A2 处理的 Shannon 指数最高,各个处理间的 Shannon 指数差异不显著($P>0.05$);在降温期 A4 处理的 Shannon 指数最高,CK 的 Shannon 指数是最低的,A4 与 CK 之间的差异显著($P<0.05$)。可见在堆肥的初始阶段,堆料中土霉素含量为高浓度或极高浓度时能够显著降低微生物群落的功能多样性。随着时间的延长,土霉素能够增加堆肥中微生物群落的功能多样性。原因可能是在堆肥前期,土霉素能够杀死一些微生物,微生物群落功能多样性降低。随着堆肥时间的延长抗性微生物大量出现,堆料中的微生物群落的功能多样性增高。

表 7 不同土霉素处理堆料微生物群落功能多样性指数

Table 7 Metabolic functional diversity of microbial community under different OTC treatments

时期 Period	指数 Index	CK	A1	A2	A3	A4
升温期 Raising temperature period	<i>H</i>	3.39±0.02a	3.37±0.02ab	3.24±0.01c	3.12±0.07c	3.32±0.01b
高温期 High temperature period	<i>H</i>	3.36±0.06a	3.37±0.01a	3.40±0.01a	3.38±0.02a	3.39±0.02a
降温期 Dropping temperature period	<i>H</i>	3.32±0.03a	3.34±0.02ab	3.34±0.01ab	3.34±0.01ab	3.36±0.00b

数值为平均值±标准差(mean±SD), $n=3$; 同一行数据中不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

2.4.3 堆肥微生物对六大类碳源的利用

堆料中微生物对不同碳源的利用情况反映了土壤微生物的代谢功能类群。从表 8 可以看出,在堆肥的 3 个期间,微生物对糖类、氨基酸类、羧酸类有着比较高的利用率,是因为这3类碳源是微生物代谢的基本物

表 8 不同时期不同土霉素处理堆料微生物对 6 类碳源的利用/AWCD

Table 8 Utilization of six groups of carbon sources by composting microbe under different OTC treatments different period/AWCD

时期 Period	处理 Treatment	糖类 Saccharides	氨基酸类 Amino acids	羧酸类 Carboxylic acids	多聚物类 Polymer compound class	多酚类 Polyphenols	多胺类 Polyamine
升温期 Raising temperature period	CK	1.67±0.08a	0.97±0.06ab	1.05±0.07a	0.59±0.08a	0.41±0.02a	0.34±0.06a
	A1	1.63±0.09a	1.01±0.13a	0.99±0.13a	0.60±0.04a	0.36±0.03a	0.29±0.04ab
	A2	1.14±0.07b	0.73±0.22cd	0.79±0.07b	0.37±0.18b	0.27±0.08b	0.26±0.02b
	A3	1.13±0.07b	0.49±0.22d	0.73±0.07c	0.15±0.04c	0.28±0.08b	0.26±0.02b
	A4	1.10±0.20b	0.75±0.08bc	0.83±0.12b	0.43±0.11ab	0.39±0.01a	0.36±0.04a
高温期 High temperature period	CK	1.87±0.03a	1.04±0.22a	1.14±0.06a	0.79±0.02a	0.46±0.05a	0.38±0.12a
	A1	1.86±0.03a	1.04±0.10a	1.17±0.01a	0.67±0.03b	0.44±0.02a	0.39±0.04a
	A2	1.97±0.13a	1.15±0.12a	1.12±0.22a	0.78±0.04a	0.48±0.01a	0.41±0.04a
	A3	1.98±0.11a	0.99±0.08a	1.12±0.13a	0.71±0.05b	0.45±0.02a	0.42±0.05a
	A4	1.70±0.10b	0.97±0.11a	1.04±0.13a	0.66±0.03b	0.37±0.08b	0.39±0.04a
降温期 Dropping temperature period	CK	1.78±0.26a	1.14±0.03a	1.19±0.11a	0.81±0.08ab	0.23±0.02a	0.26±0.22a
	A1	1.54±0.14a	0.95±0.04bc	0.97±0.07b	0.77±0.01ab	0.25±0.12a	0.30±0.07a
	A2	1.59±0.09a	0.85±0.12c	0.93±0.08b	0.74±0.08b	0.17±0.03a	0.21±0.08a
	A3	1.65±0.16a	0.95±0.01bc	0.86±0.05b	0.85±0.05a	0.19±0.01a	0.32±0.07a
	A4	1.59±0.07a	1.00±0.04b	0.93±0.02b	0.81±0.02ab	0.20±0.01a	0.35±0.04a

数值为平均值±标准差(mean±SD), $n=3$; 同一列数据中不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

质,能够被大部分的微生物所利用。在升温期,A2、A3 和 A4 处理中的微生物对六大类碳源的利用与 CK 相比差异显著($P<0.05$),表明在升温期添加的土霉素浓度超过 35 mg/kg 以上时,堆料中微生物无论是基础代谢还是次生代谢都受到了显著的抑制。在高温期,A4 处理中的微生物对糖类的利用相比于其他处理处于一个比较低的水平,可能是因为过高的土霉素浓度对微生物的基础代谢产生了抑制作用。在降温期,添加土霉素处理与 CK 对氨基酸和羧酸类的利用差异达到显著水平($P<0.05$),A2 处理对氨基酸的利用是最低的,A3 处理对羧酸类利用是最低的,反映出土霉素添加对堆料中微生物利用碳源的能力产生了显著的影响。从整个堆肥过程来看,A1 处理只在高温期对多聚化合物,降温期对氨基酸和羧酸类利用与 CK 差异显著($P<0.05$),表明低浓度的土霉素对微生物代谢能力的影响不大;A2 和 A3 处理在高温期对六大类碳源的利用与 CK 相比差异达到显著水平,随着堆肥时间的延长,A2 和 A3 处理与 CK 对碳源利用基本没有显著的差异。在整个堆肥期间,A4 处理堆料中微生物对六大类碳源的利用一直处于一个较低的水平,表明极高浓度的土霉素处理对堆料中的微生物利用碳源的能力产生显著的抑制作用。

3 讨论

堆肥化是在一系列酶的作用下进行的,堆肥进程中的酶活性受到微生物的种类、温度、pH 值等环境因素的影响^[31]。王丽平等人^[32]指出土霉素污染对土壤生物化学性质的影响主要发生在土霉素进入土壤的初期,随着时间的增加,影响逐渐减弱和消失。本文研究土霉素对堆肥温度的影响表明土霉素能够对堆肥的温度造成一定影响,这可能是在堆肥前期土霉素的毒害作用造成微生物大量死亡,整体代谢活性偏低的结果。Boles^[33]等研究发现土壤中 1 mg/kg 的四环素可显著抑制土壤脱氢酶和磷酸酶的活性。姚志鹏^[27]采用室内培养试验研究了土霉素对土壤过氧化氢酶、磷酸酶、脲酶、蔗糖酶和脱氢酶活性的影响,表明在培养第 1 天,100 mg/kg 土霉素处理对脲酶具有显著的刺激作用,以后土霉素对脲酶活性影响不明显,而对土壤过氧化氢酶、磷酸酶、蔗糖酶和脱氢酶主要体现抑制作用。本文的酶活性研究结果表明,140 mg/kg 土霉素浓度处理能够对纤维素酶活性产生抑制作用;对脲酶的影响是在堆肥初期(1—3 d)起刺激作用,堆肥后期(18 d 之后)起抑制作用;在堆肥的 1—18 d 对过氧化氢酶活性基本上起促进作用,堆肥后期,抑制过氧化氢酶活性。本文的酶活性研究结果与上述作者的研究结果有不一致的地方,主要体现在土霉素对脲酶活性的影响,本试验研究结果是,在后期土霉素的浓度达到 105 mg/kg 时对脲酶活性起着显著的抑制作用,而前人研究结果是后期土霉素浓度的高低对脲酶活性不会产生显著影响。可能是因为本次试验是在堆肥环境中进行的,温度波动较大,导致微生物的种群和数量变化较大,同时微生物分泌的胞外酶的量受到堆肥温度的影响较大。

土壤微生物是土壤生态系统中的重要组成部分。刘锋^[17]等人研究了抗生素对土壤微生物呼吸的影响,结果表明四环素对土壤呼吸影响不大,Dijk^[34]等研究发现饲料添加剂中的抗生素对土壤和水环境中典型微生物的生长有明显的影响。Biolog 微平板法广泛的被用于环境微生物群落方面的研究^[35],通过测定 Biolog 微平板中的吸光值表明土霉素在整个堆肥期间主要对堆料中微生物的活性起着抑制作用,说明在整个堆肥期间其毒害作用是一直存在的。而对微生物群落的功能多样性的影响主要体现在添加高浓度和极高浓度土霉素的堆料中,具体表现是随着堆肥时间的延续,在超过一定浓度土霉素的胁迫作用下,抗性物种大量产生,堆肥中微生物群落的功能多样性增加,由此可见,土霉素对微生物的种类和数量能够产生影响,并进而影响微生物的代谢活性和群落功能多样性,这与前人的研究结论一致。

4 结论

(1) 土霉素能够对堆肥的温度造成一定影响,这种影响主要体现在高温期的维持时间,一般而言土霉素的浓度越高,对温度的影响越大。

(2) 土霉素添加浓度达到 105 mg/kg 时,能够对堆肥的种子发芽指数造成显著的影响。

(3) 土霉素的浓度越高对堆料中酶活性的影响越大,通过 3 种酶活性变化趋势分析,在堆肥开始阶段,土霉素一般能够激发酶的活性,但随着时间延长,土霉素的毒性作用开始显现出来,对酶活性的影响逐渐由正效应变为负效应。

(4) 土霉素对微生物群落代谢的影响体现在:超过一定浓度的土霉素(大于 105 mg/kg)对微生物的群落代谢产生显著的影响。

References:

- [1] Tiquia S M, Tam N F Y, Hodgkiss I J. Microbial activities during composting of spent pig-manure sawdust litter at different moisture contents. *Bioresource Technology*, 1996, 55(3): 201-206.
- [2] Montforts M H M M, Kalf D F, van Vlaardingen P L A, Linders J B H J. The exposure assessment for veterinary medicinal products. *The Science of the Total Environment*, 1999, 225(1/2): 119-133.
- [3] Hamscher G, Sczesny S, Höper H, Nau H. Determination of persistent Tetracycline residues in soil fertilized with Liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2002, 74(7): 1509-1518.
- [4] Wang J, Gu X J, Zhao J. Function of Soil enzyme activities in indicating soil fertility in *Leyluse chinensis* steppe. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(4): 934-938.
- [5] Acosta-Martínez V, Bell C W, Morris B E L, Zak J, Allen V G. Long-term soil microbial community and enzyme activity responses to an integrated cropping-livestock system in a semi-arid region. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2010, 137(3/4): 231-240.
- [6] Chen W, Wu L, Frankenberger W T, Chang A C. Soil enzyme activities of long term reclaimed wastewater-irrigated soils. *Journal of Environmental Quality*, 2008, 37(5): 36-42.
- [7] Smårs S, Gustafsson L, Beck-Friis B, Jönsson H. Improvement of the composting time for household waste during an initial low pH phase by mesophilic temperature control. *Bio Resource Technology*, 2002, 84(3): 237-241.
- [8] Zaval M A L, Funamizu N, Takakuwa T. Modeling of aerobic biodegradation of feces using saw dust as a matrix. *Water Research*, 2004, 38(5): 1327-1339.
- [9] Guo X L, Gu J, Gao H, Qing Q J, Sun W, Chen Z X, Zhang W J, Li H L. Effect of Zn on physicochemical characteristics and hydrolase activities during composting of agricultural waste in high temperature and static state. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2011, 17(3): 638-645.
- [10] Zhang W J, Gu J, Gao H, Zhang H B, Liu Q, Li H L. Effects of heavy metals Zn on oxidoreductase activity during cocomposting of pig manure and straw. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(2): 383-388.
- [11] 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. *Chemosphere*, 2006, 65(5): 725-759.
- [12] Zhang S Q, Zhang F D, Liu X M, Wang Y J, Zou S W, He X S. Determination and analysis on main harmful composition in excrement of scale livestock and poultry feedlots. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(6): 822-829.
- [13] Cao H L, Wang Q, Hu Q P, Chen W L. Optimized technology for aerobic fermentation of dairy manure to produce bioorganic fertilizer by inoculating compound microbes. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2009, 25(1): 189-193.
- [14] Guan S Y. *Soil Enzymes and Methodology*. Beijing: China Agriculture Press, 1983: 260-339.
- [15] Classen A T, Boyle S I, Haskins K E. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: Plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 44(3): 319-328.
- [16] Macgregor S T, Miller F C, Psarianos K M. Composting process control based on interaction between microbial heat output and temperature. *Applied and Environment Microbiology*, 1981, 41(5): 1321-1330.
- [17] Liu F, Ying G G, Zhou Q X, Tao R, Su H C, Li X. Effects of antimicrobial drugs on soil microbial respiration. *Environmental Science*, 2009, 30(5): 1280-1285.
- [18] Diao X P, Sun Y J, Sun Z J, Shen J Z. Effects of three kinds of veterinary drugs on microbe respiration in different soils. *Journal of China Agricultural University*, 2006, 11(2): 293-298.
- [19] Huang G F, Wu Q T, Meng Q Q, Huang H Z. Substance changes and maturity evaluation during pig manure composting. *Journal of South China Agricultural University*, 2002, 23(3): 1-4.
- [20] Guan J F. Microbial ecology and artificial inoculation during the thermophilic composting process of municipal refuse. *Sichuan Environment*, 2000, 19(3): 21-30.
- [21] Gu W J, Zhang F B, Xu P Z, Xie K Z, Tang S H, Chen J S, Huang X. Inoculum additions during composting: impacts on microbial populations and enzyme activity. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(8): 1718-1722.
- [22] Zhang S Q, Zhang F D, Liu X M, Wang Y J, Zhang J F. Degradation of antibiotics and passivation of heavy metals during thermophilic composting process. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(2): 337-343.
- [23] Benitez E, Nogales R. Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludge composting with *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology*, 1999, 67(3): 297-303.
- [24] Pao Z, Cui Z J, Su B L. Characterization of biochemistry and degradation of plant inhibited materials during high temperature composting. *Agro-Environmental Protection*, 2001, 20(4): 206-209.
- [25] Gu J, Li S X, Qing Q J, Li L M, Gao H. Changes of some hydrolase activities during agricultural waste materials composting in high temperature and static state. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(5): 32-35.

- [26] Shen Q R, Wang R B, Wang Y, Xu G H, Xu L. Biochemical characteristics of composting. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1996, 20(2): 51-57.
- [27] Yao Z P, Li Z J, Lang Y C, Zhang Y Q, Yao J H, Xie X Y. Dynamic responses of soil enzymatic activities to oxytetracycline in soil. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15(3): 696-700.
- [28] Liu L L, Lin K F, Su A H, Yang S S, Zhang M. Effects of tetrabromobisphenol A on soil enzyme activities. *Environmental Pollution and Control*, 2008, 30(6): 13-17.
- [29] Choi K H, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biolog micro plates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. *Journal of Microbiological methods*, 1999, 36(3): 203-213.
- [30] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities. *Environmental Management*, 1997, 21(2): 233-238.
- [31] Liu F, Ying G G, Yang L H. Terrestrial ecotoxicological effects of the antimicrobial agent triclosan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009, 72(1): 86-92.
- [32] Wang L P, Zhang M K. Effects of oxytetracycline pollution on soil biological properties. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(7): 1434-1438.
- [33] Boles S, Alonso C, Pro J, Fernández C, Carbonell G, Tarazona J V. Toxicity of the antimicrobial oxytetracycline to soil organism in a multi-species soil system and influence of manure coaddition. *Journal of Hazard Materials*, 2005, 122(2): 233-241.
- [34] Dijck P V, Vande V H. Sensitivity of environmental microorganism to antimicrobial agents. *Applied Environmental Microbiology*, 1976, 31(2): 332-336.
- [35] Xi J Y, Hu H G, Qian Y. Application of biolog system in the study of microbial community. *Acta Microbiologica Sinica*, 2003, 43(1): 138-141.

参考文献:

- [4] 王娟, 谷雪景, 赵吉. 羊草草原土壤酶活性对土壤肥力的指示作用. *农业环境科学学报*, 2006, 25(4): 934-938.
- [9] 郭星亮, 谷洁, 高华, 秦清军, 孙薇, 陈智学, 张卫娟, 李海龙. 重金属 Zn 对农业废弃物静态高温堆腐过程中理化性质和水解酶活性的影响. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17(3): 638-645.
- [10] 张卫娟, 谷洁, 高华, 张洪宾, 刘强, 李海龙. 重金属锌对猪粪堆肥过程中氧化还原类酶活性的影响. *农业环境科学学报*, 2011, 30(2): 383-388.
- [12] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 王玉军, 邹绍文, 何绪生. 规模化养殖畜禽粪主要有害成分测定分析研究. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(6): 822-829.
- [13] 曹慧玲, 王琦, 胡青平, 陈五岭. 添加复合菌剂好氧发酵牛粪生产生物肥料的工艺优化. *农业工程学报*, 2009, 25(1): 189-193.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 中国农业出版社, 1983: 260-339.
- [17] 刘锋, 应光国, 周启星, 陶然, 苏浩昌, 李旭. 抗生素类药物对土壤微生物呼吸的影响. *环境科学*, 2009, 30(5): 1280-1285.
- [18] 刁习平, 孙英健, 孙振钧, 沈建忠. 3 种兽药对土壤微生物呼吸的影响. *中国农业大学学报*, 2006, 11(2): 293-298.
- [19] 黄国锋, 吴启堂, 孟庆强, 黄焕忠. 猪粪堆肥化处理的物质变化及腐熟度评价. *华南农业大学学报*, 2002, 23(3): 1-4.
- [20] 官家发. 高温堆肥发酵工艺处理城市生活垃圾过程中的部分微生物学问题. *四川环境*, 2000, 19(3): 21-30.
- [21] 顾文杰, 张发宝, 徐培智, 解开治, 唐拴虎, 陈建生, 黄旭. 接种菌剂对堆肥微生物数量和酶活性的影响. *农业环境科学学报*, 2009, 28(8): 1718-1722.
- [22] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 王玉军, 张建峰. 高温堆肥对畜禽粪中抗生素降解和重金属钝化的作用. *中国农业科学*, 2006, 39(2): 337-343.
- [24] 朴哲, 崔宗均, 苏宝林. 温堆肥的生物化学变化特征及植物抑制物质的降解规律. *农业环境保护*, 2001, 20(4): 206-209.
- [25] 谷洁, 李生秀, 秦清军, 李明雷, 高华. 水解类酶活性在农业废弃物静态高温堆腐过程中的变化. *中国农学通报*, 2005, 21(5): 32-35.
- [26] 沈其荣, 王瑞宝, 王岩, 徐国华, 余玲. 堆肥制作中的生物化学变化特征. *南京农业大学学报*, 1996, 20(2): 51-57.
- [27] 姚志鹏, 李兆君, 梁永超, 张永清, 姚建华, 解晓瑜. 土壤酶活性对土壤中土霉素的动态响应. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15(3): 696-700.
- [28] 刘莉莉, 林匡飞, 苏爱华, 杨莎莎, 张梅. 四溴双酚 A 对土壤酶活性的影响. *环境污染与防治*, 2008, 30(6): 13-17.
- [32] 王丽平, 章明奎. 土霉素污染对土壤生物学性质影响的初步研究. *农业环境科学学报*, 2009, 28(7): 1434-1438.
- [35] 席劲瑛, 胡洪营, 钱易. Biolog 方法在环境微生物群落研究中的应用. *微生物学报*, 2003, 43(1): 138-141.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33, No.21 Nov., 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Gross ecosystem product: theory framework and case study OUYANG Zhiyun, ZHU Chunquan, YANG Guangbin, et al (6747)
- Advances in impacts of climate change on infectious diseases outbreak LI Guodong, ZHANG Junhua, JIAO Gengjun, et al (6762)
- Ecology of aerobic methane oxidizing bacteria (methanotrophs) YUN Juanli, WANG Yanfen, ZHANG Hongxun (6774)
- Nitrogen deposition and *Leymus chinensis* leaf chlorophyll content in Inner Mongolian grassland
..... ZHANG Yunhai, HE Nianpeng, ZHANG Guangming, et al (6786)
- Worldwide distribution and multivariate similarity clustering analysis of spiders
..... SHEN Xiaocheng, ZHANG Baoshi, ZHANG Feng, et al (6795)
- The influence of wind direction on pollen-mediated gene flow in transgenic insect-resistant cotton
..... ZHU Jialin, HE Juan, NIU Jianqun, et al (6803)

Autecology & Fundamentals

- Ecological characteristics of benthic diatoms, protozoa and meiobenthos in the sediments of the Changjiang Estuary and East China
Sea in spring MENG Zhaoxui, XU Kuidong (6813)
- Macrobenthic functional groups at the reclamation and natural tidal flats of Hengsha East Shoal, the Estuary of Changjiang River
..... LV Weiwei, MA Chang'an, YU Ji, et al (6825)
- Enrichment and ecological risk of heavy metal in soils and dominant plants in the riparian of the Fenghe River
..... YANG Yang, ZHOU Zhengchao, WANG Huanhuan, et al (6834)
- Effects of salinity and exogenous substrates on the decomposition and transformation of soil organic carbon in the Yellow River
Delta LI Ling, QIU Shaojun, TAN Feifei, et al (6844)
- Effects of short-term dark chilling on leaves carbon and nitrogen metabolism and involved activities of enzymes in mangrove *Kandelia
obovata* seedling ZHENG Chunfang, LIU Weicheng, CHEN Shaobo, et al (6853)
- Preliminary evaluation on tolerance to phosphorous deficiency of 32 cultivars of cut chrysanthemum
..... LIU Peng, CHEN Sumei, FANG Weimin, et al (6863)
- Effects of age and environmental conditions on accumulation of heavy-metals Cd and Cu in *Tegillarca granosa*
..... WANG Zhaogen, WU Hongxi, CHEN Xiaoxiao, et al (6869)
- Effects of Chinese gallnut on photosynthetic characteristics and total nitrogen content of *Rhus chinensis*
..... LI Yang, YANG Zixiang, CHEN Xiaoming, et al (6876)
- The characterization of glyphosate degradation by *Burkholderia multivorans* WS-FJ9 LI Guanxi, WU Xiaoqin, YE Jianren (6885)
- Electroantennographic and behavioural responses of scarab beetles to *Ricinus communis* leaf volatiles
..... LI Weizheng, YANG Lei, SHEN Xiaowei, et al (6895)

Population, Community and Ecosystem

- Ecosystem health assessment in Baiyangdian Lake XU Fei, ZHAO Yanwei, YANG Zhifeng, et al (6904)
- Characteristics of macrobenthic communities in mangrove wetlands along the waterways of North Hezhou, Zhuhai, South China
..... WANG Hui, ZHONG Shan, FANG Zhanqiang (6913)
- The interaction between components of ecosystem respiration in typical forest and grassland ecosystems
..... ZHU Xianjin, YU Guirui, WANG Qiufeng, et al (6925)
- Effects of thinning on macro fungi and their relationship with litter decomposition in *Pinus tabulaeformis* plantations
..... CHEN Xiao, BAI Shulan, LIU Yong, et al (6935)

- Beta diversity of plant communities in Baishanzu Nature Reserve TAN Shanshan, YE Zhenlin, YUAN Liubin, et al (6944)
- Effect of Oxytetracycline (OTC) on the activities of enzyme and microbial community metabolic profiles in composting
..... CHEN Zhixue, GU Jie, GAO Hua, et al (6957)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Variations in leaf anatomy of *Larix gmelinii* reflect adaptation of its photosynthetic capacity to climate changes
..... JI Zijing, QUAN Xiankui, WANG Chuankuan (6967)
- The studying of key ecological factors and threshold of landscape evolution in Yancheng Coastal wetland
..... ZHANG Huabing, LIU Hongyu, LI Yufeng, et al (6975)
- Eco-physiological response of *Phragmites communis* to water table changes in the Horqin Sand Land
..... MA Yunhua, ZHANG Tonghui, LIU Xinping (6984)
- Improvement of snowmelt implementation in the SWAT hydrologic model ... YU Wenjun, NAN Zhuotong, ZHAO Yanbo, et al (6992)
- Responses of lake fluctuation to climate change in Horqin Sandy Land
..... CHANG Xueli, ZHAO Xueyong, WANG Wei, et al (7002)
- Water ecology and fractal characteristics of soil particle size distribution of three typical vegetations in Shell Island
..... XIA Jiangbao, ZHANG Shuyong, WANG Rongrong, et al (7013)
- Spatio-temporal distribution of epilithic algal chlorophyll a in relation to the physico-chemical factors of Gufu River in Three Gorges Reservoir WU Shuyuan, GE Jiwen, MIAO Wenjie, et al (7023)

Resource and Industrial Ecology

- Graphic analysis of spatio-temporal effect for vegetation disturbance caused by coal mining: a case of Datong Coal Mine Area
..... HUANG Yi, WANG Yunjia, LI Xiaoshun, et al (7035)

《生态学报》2014 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 余新晓

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 21 期 (2013 年 11 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 21 (November, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail: journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel: (010)64034563 E-mail: journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add: P.O.Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元