

堆肥中高效降解纤维素及金霉素和土霉素的复合菌系的构建

秦莉¹, 高茹英², 徐亚平¹, 胡菊³

(1.农业部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2.中国农业大学水利与土木工程学院, 北京 100083; 3.中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193)

摘要:为构建有效降解纤维素和抗生素类兽药(金霉素和土霉素)复合功能的微生物菌系,以4种高温期堆肥样品为菌种来源,经多代优化组合,最终筛选驯化出能有效降解纤维素及金霉素和土霉素的一组复合微生物菌系,该菌系对pH的适应性较强。通过对复合菌系在传代(20、25代和30代)过程中的稳定性研究,3代发酵液的pH变化几乎没有差异;在接种后24 h内,发酵液pH由开始时的8.5迅速下降到7.0以下;接种后48 h内,pH稳定在7.0左右;在接种后72 h,pH恢复到8.0左右,即均呈现先降后升的趋势;3代复合菌系在第3 d的滤纸分解率均超过90%;在发酵结束时,金霉素和土霉素降解率均超过50%,且3代之间差异极小。复合菌系在分解纤维素及金霉素和土霉素方面具备稳定能力。

关键词:复合菌系;堆肥;纤维素;抗生素;降解菌;金霉素;土霉素

中图分类号:X705 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2014)03-0465-06 doi:10.11654/jaes.2014.03.009

Construction of a High-Efficiency Complex Microbial System to Degrade Cellulose and Chlortetracycline and Oxytetracycline in Compost

QIN Li¹, GAO Ru-ying², XU Ya-ping¹, HU Ju³

(1. Agro-Environmental Protection Institute, the Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China; 2. College of Water Conservancy and Civil Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China; 3. College of Resources and Environment Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Composting is an effective way to dispose animal manures. However, cellulose and antibiotics in the manures often impact the maturity speeds of composts. Here we built a complex microbial system capable of degrading cellulose and chlortetracycline (CTC) and oxytetracycline (OTC) efficiently in 4 types of thermophilic compost samples through several generations of portfolio optimization. This complex microbial system adapted a wider range of pH, and had strong stability. For the third generation, its medium pH reduced to 7.0 from initial 8.5 within 24 h of inoculation, stayed at 7.0 for 48 h and then raised to 8.0 after 72 h. The microbial system degraded filter paper by more than 90% in 3 days, and CTC and OTC by more than 50% in 7 days of inoculation. The results indicate that the constructed complex microbial system has stable capability of degrading cellulose and antibiotics (CTC and OTC).

Keywords: complex microbial system; compost; cellulose; antibiotic; degradation bacteria; chlortetracycline; oxytetracycline

抗生素类兽药及其作为饲料添加剂在畜禽养殖业中的大量使用,使得其在畜禽粪便中的残留量也呈急剧上升趋势。我国每年畜禽粪便中抗生素残留量已

达到2170 t^[1]。含有残留兽药的粪便作为有机肥施入农田势必会造成土壤污染,对人类健康和生态系统产生潜在危害^[2-3]。张慧敏等比较了未施用畜禽粪便的农田及长期施用含残留抗生素畜禽粪便的农田土壤中3种四环素类抗生素的残留情况。结果发现,在施用含残留抗生素粪便的农田表层土壤中土霉素和金霉素的检出率均高达93%,分别是未施用粪便农田表层土壤的38倍和12倍^[4]。Hamscher等研究发现,在长期施用动物排泄物的表层土壤中,土霉素的最大残留

收稿日期:2013-06-26

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(农业部环境保护科研监测所)(2006-aepi-05, 2008-aepi-01); 国家科技支撑项目(2007BAD89BP7); 国家科技支撑项目(2008BAD96B03)

作者简介:秦莉(1973—),女,博士,副研究员,主要从事农产品及其产地环境质量控制研究。E-mail:ql-tj@163.com

量高达 $32.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1[5]}$ 。因此,有必要对畜禽粪便进行无害化处理。高温好养堆肥是畜禽粪便无害化处理与资源化利用的一种有效方法^[6]。诸多研究表明,高温堆肥对四环素类抗生素主要种类具有不同程度的降解效果^[7-9]。

纤维素是有机废弃物的重要成分,其结构复杂,具有抗自然降解的特性,它的存在严重影响了堆肥的腐熟速度,因此木质纤维素的快速降解成为堆肥腐熟的主要限制性因素^[6,10]。研究表明,外源添加有益降解菌剂亦有助于抗生素药物残留的去除^[7,11]。微生物学纯培养技术不能很好地解决天然纤维素的分解问题,而自然界的纤维素在多种微生物的共同作用下可以彻底分解。所以,近年来,国内外研究者越来越多地通过采用限制性培养,对自然界存在的各种功能微生物进行有目的优化组合,已成功构建了多组高效稳定的多功能复合菌系^[12]。

本研究采用多代淘汰及其不同系之间优化组合方法,驯化构建一组能适应高温堆肥环境的有效降解纤维素与抗生素类兽药(金霉素和土霉素)双重功能的复合菌系,本文对该菌系的驯化构建过程、分解功能及稳定性研究结果进行报告。

1 材料与方法

1.1 菌种来源

以鸡粪+酒糟(A1),猪粪+玉米秸秆(B1),牛粪+稻秸(C1),人粪尿+麦秸(D1)为原料的好氧堆肥高温期样品作为供试样品。

1.2 培养条件

纤维素蛋白胨培养基(PCS),其成分为:0.5%蛋白胨、0.5%纤维素(滤纸)、0.5% NaCl、0.3% CaCO_3 、0.1% 酵母粉,在 50°C 静置培养,保持液体培养基内部的 DO(溶氧量)为 $0.02\sim 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.3 复合菌系的构建方法

首先从 4 种堆肥(堆体中部)高温期样品中筛选出几组能快速降解纤维素的复合微生物菌系(筛选方法参见崔宗均等《一组高效稳定纤维素分解菌复合系 MC1 的筛选及功能》^[12]),从中各取 5% 分别接种于 PCS 培养基中,分别加入浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的金霉素和土霉素混合液(金霉素和土霉素浓度比为 1:1,下同),培养方法同前,传代过程中逐代提高金霉素和土霉素添加量,至培养液中的金霉素和土霉素混合浓度达到 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,选出在此浓度条件下能保持 pH 稳定且滤纸分解速度快的复合菌系^[13-14]。另在加有一定

浓度金霉素和土霉素的 PCS 培养基中加入堆肥样品对微生物进行筛选,直至培养液中的金霉素和土霉素混合浓度达到 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,筛选出滤纸分解速度快的复合菌系^[13-14]。以上两步骤同时进行,将分别筛选出的降解性能较强的菌系进行混和接种,连续传代,直到菌系稳定。

1.4 不同初始 pH 条件下复合菌系的降解特性

调节 PCS 培养基的 pH 值梯度分别为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,接种经 1.3 筛选出的复合菌系菌,添加金霉素和土霉素的混合浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。分别测定接种后 1~7 d 培养液中 pH 值的变化情况。

1.5 复合菌系在不同培养时间的生长特性

以 5% 的接种量将复合菌系接种于以 0.5 g 滤纸作为唯一碳源的 100 mL PCS 中,添加金霉素和土霉素的混合浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 50°C 静置连续培养,在接种后的 0、1、2、4、6、8、10 d 取菌悬液,用分光光度计(620 nm)测定浊度并绘制复合菌系的生长曲线。

1.6 复合菌系的稳定性研究

1.6.1 不同代次复合菌系 pH 值的变化情况

将选取不同代次的复合菌系,分别接种于 100 mL PCS 中,添加金霉素和土霉素的混合浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,培养条件同上。每隔 12 h 测定 1 次发酵液的 pH,直至 pH 稳定。

1.6.2 不同代次复合菌系的降解性能

量取第 20、25、30 代复合系菌液 5 mL,分别接种于 0.5 g 滤纸为唯一碳源制作的 100 mL PCS 培养基中,添加金霉素和土霉素混合浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,培养条件同上。于接种后第 3 d 测定滤纸减重,第 7 d 测定金霉素和土霉素的含量。

1.7 测定方法

1.7.1 pH 值的测定

用日本产 HORIBA-212 型酸度计进行测定。

1.7.2 纤维素材料的分解率

将培养液直接以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心,倒上清液,用盐酸和硝酸的混合液冲洗而消除菌体^[15],离心,清水洗,离心, 105°C 烘干后称重,计算减重和分解率。

1.7.3 金霉素和土霉素降解能力

金霉素和土霉素的测定方法参考文献《外源复合菌系对堆肥纤维素和金霉素降解效果的研究》^[16]和《堆肥中土霉素和金霉素的液相色谱荧光检测方法》^[17]。

前处理方法:添加金霉素和土霉素的培养液用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{EDTA-McIlvaine}$ ($\text{pH}=4.0\pm 0.05$) 缓冲溶液提取,离心后上清液用 Oasia HLB 和阴离子交换柱

净化。

检测仪器:带紫外检测器的惠普 1100 型高效液相色谱仪(HPLC)。

工作条件:ODS-C18(5 μm)6.2 mm $\times$ 15 cm 色谱柱,检测波长 355 nm,灵敏度 0.002AUFS,柱温为室温,流速 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$,进样量 10 μL ,流动相为乙腈+0.01 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 磷酸二氢钠溶液(用 30%硝酸溶液调节 pH2.5)=35+65,使用前用超声波脱气 10 min。

校准方法采用单点法校准。

兽药降解率% =

$$\frac{\text{对照培养液中的含量} - \text{发酵液中的含量}}{\text{对照培养液中的含量}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 复合菌系的筛选与驯化

由表 1 可以看出,筛选过程中,4 种堆肥样品的培养液中滤纸的分解速度是存在差异的,且随着传代,滤纸的分解速度下降,培养液的 pH 值也在不断发生变化,为了保证筛选出的菌株纤维素降解功能稳定,且具有普适性,将其混合接种,连续转接若干代,最终至各菌系的滤纸分解能力和 pH 都趋于稳定。

将初步筛选出的混合菌体(A1D1、B1D1 和 C1D1)分别接种于添加了金霉素和土霉素的培养基中进行驯化培养,逐渐提高金霉素和土霉素添加量,至浓度达到 200 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 。从图 1 可以看出,当金霉素和土霉素添加浓度小于 100 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 时,复合菌系的纤维素降解功能未受到显著影响,滤纸的分解率仍在 80% 以上。而随着金霉素和土霉素添加浓度的增加,复合菌系对纤维素的降解能力不断下降,当金霉素和土霉素添加浓度为 150 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 时,3 个菌系对滤纸的分解效率在 70% 左右。这可能是由于随着金霉素和土霉素混合浓度的增加,复合菌系中部分菌株的生长受到了抑制,但不是关键菌。当金霉素和土霉素添加浓度为

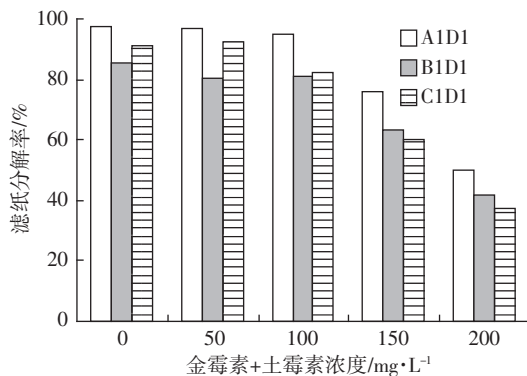


图 1 复合菌系在不同浓度金霉素和土霉素的条件下对滤纸的分解情况

Figure 1 Degradation of filter paper by the complex microbial system under different concentrations of CTC and OTC

200 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 时,3 个菌系对滤纸的分解能力急剧下降,分解率均低于 50%,说明该添加浓度对复合菌系的功能抑制作用较为明显。

如此通过反复筛选和驯化,最后在金霉素和土霉素浓度为 200 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 的培养基中将 A1D1、B1D1、C1D1 按 1:1:1 混合接种连续转接 30 代,得到一组滤纸分解速度快,金霉素和土霉素降解效率高的复合菌系。

2.2 不同初始 pH 条件下复合菌系的特性

从图 2 可以看出,将复合菌系(混合菌体)接种在不同初始 pH 的培养液中,培养液的 pH 值最终都趋于中性。初始 pH4、pH5 处理在接种 1 d 后,培养液的 pH 值呈上升趋势,都集中在 7.0 左右,之后初始 pH4 处理培养液的 pH 值略有升高,而 pH5 处理培养液的 pH 值略有下降,在第 2~3 d 时两处理的培养液 pH 值均不断下降,在第 3 d 时下降到 5.5 左右,3 d 后又开始升高,最终上升至 7.0 左右;初始 pH6~9 处理在接种 1 d 后,培养液的 pH 值基本保持在 7.0 左右,第 3

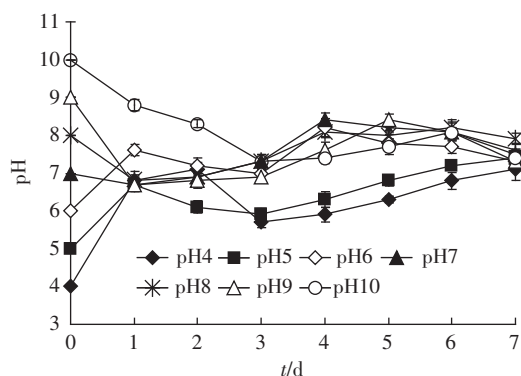


图 2 不同初始 pH 下接种后发酵液中 pH 值的变化

Figure 2 Changes of pH in culture media after inoculating the complex microbial system at different initial pH

表 1 4 种堆肥样品培养物的滤纸分解和 pH 随传代的变化

Table 1 Changes of filter paper degradation and pH over generations of the complex microbial system from 4 composts

样 品	第 1 代		第 5 代		第 10 代	
	崩解时 间/h	3 d 后 的 pH	崩解时 间/h	3 d 后 的 pH	崩解时 间/h	3 d 后 的 pH
猪粪+玉米秸秆(A1)	72	7.4	96	6.9	96	6.5
人粪尿+麦秸(B1)	72	6.3	132	8.0	144	6.8
鸡粪+酒糟(C1)	84	7.2	108	6.2	96	6.7
牛粪+稻壳(D1)	96	6.7	120	5.7	108	7.8

d 过后开始逐渐升高,在培养结束时又回落到 7.0 左右;初始 pH10 处理接种后培养液 pH 值缓慢下降,在第 3 d 降到最低值 7.3,随后略有上升,在培养结束时最终又回落到 7.0 左右。复合菌系在分解纤维素的过程中会产生大量的有机酸,致使发酵液 pH 不断下降,当发酵液中的滤纸崩解速度最快时,发酵液的 pH 降到最低,而随着滤纸不断减少,有机酸进一步分解转化,发酵液 pH 又不断回升。

2.3 复合菌系在不同培养时间的生长曲线

从图 3 可以看出,在 0~3 d 内,OD620 急剧增加,在第 3 d 发酵液的菌体浊度就达到 2.24,说明在发酵前期复合菌系的生长量较大,处于对数生长期。3 d 后发酵液的 OD620 值缓慢下降,说明复合菌系生长变缓,5 d 后菌体浊度基本维持在 1.8 左右,说明复合菌系生长基本稳定。

2.4 复合菌系的稳定性研究

2.4.1 不同代复合菌系发酵液的 pH 变化

从图 4 可以看出,第 20、25、30 代复合菌系在培养过程中,其发酵液的 pH 值变化趋势基本一致,即

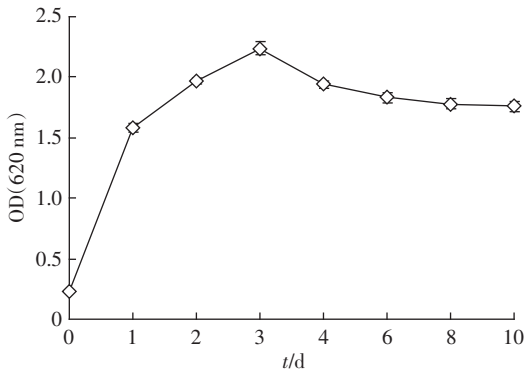


图 3 复合菌系的生长曲线

Figure 3 Growth curve of the complex microbial system

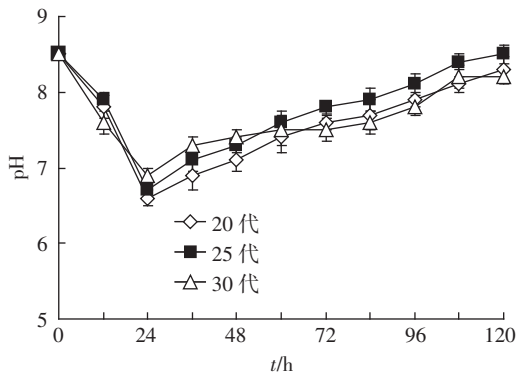


图 4 不同代复合菌系发酵液的 pH 变化

Figure 4 Changes of pH in culture media under different generations of the complex microbial system

在接种后的 24 h 内,3 代复合菌系发酵液的 pH 下降迅速,由最初的 8.5 下降到 7.0 以下,这也是滤纸崩解最旺盛的时期,在此期间,随着滤纸不断分解而产生大量有机酸使发酵液 pH 迅速下降。接种后 48 h,pH 基本稳定在 7.0 左右。之后随着滤纸逐渐被降解完毕,在接种后 72 h 时,发酵液的 pH 值基本恢复到 8.0 左右。由此说明复合菌系发酵液的 pH 变化与纤维素(滤纸)分解之间相关性较强。在培养至 120 h 时,发酵液的 pH 值基本恢复到接种前水平。3 代发酵液 pH 变化趋势的一致性,表现出复合菌系的稳定性。

2.4.2 不同代对滤纸和金霉素及土霉素的降解特性

由表 2 可以看出,三代复合菌系在第 3 d 时对滤纸的分解效率都高于 90%,在第 7 d 时对金霉素和土霉素的降解率都达到了 50%以上,复合菌系分解纤维素和金霉素及土霉素的能力趋于稳定。

表 2 复合系各代不同时期的滤纸和金霉素及土霉素的降解情况

Table 2 Degradation of cellulose and CTC and OTC by the complex microbial system during different times

传代 次数	3 d 滤纸 分解率/%	7 d 金霉素 降解率/%	7 d 土霉素 降解率/%
20 代	93.8±1.6	56.7±2.2	52.9±2.8
25 代	91.9±2.1	53.4±1.7	51.3±1.9
30 代	91.2±2.0	55.2±2.6	50.1±1.1

3 讨论

De Liguoro 等^[18]研究发现,运用好氧堆肥技术处理粪肥,土霉素半衰期长达 30 d,且在腐熟 5 个月后仍能检测到土霉素。Li 等^[19]将猪粪堆肥与不同土壤混合后发现,土霉素的稳定性高于四环素和金霉素,降解 50%所需时间为 30~41 d,降解 90%所需时间为 100~137 d,即普通好氧堆肥在处理畜禽粪便土霉素残留时有一定的局限性。Wang 等^[20]通过研究指出,为了提高好氧堆肥过程中土霉素的降解速率,在堆体中接种高效土霉素降解菌是一种良好的策略。

本研究通过微生物分离试验,分别从鸡粪+酒糟、猪粪+玉米秸秆、牛粪+稻秸、人粪尿+麦秸为原料的好氧堆肥高温期样品中筛选驯化出能有效降解纤维素和抗生素类兽药(金霉素和土霉素)的一组复合菌系。在驯化过程中,金霉素和土霉素的添加浓度小于 100 mg·L⁻¹ 时,复合菌系的纤维素降解功能基本未受影响;但当金霉素和土霉素的添加浓度增加到 150 mg·L⁻¹ 时,复合菌系对纤维素的分解能力明显下降;当金霉素和土霉素的添加浓度增加到 200 mg·L⁻¹ 时

3个菌系对滤纸的分解率均低于50%,说明该浓度下纤维素降解复合菌系的功能明显受到抑制,即当金霉素和土霉素的混合浓度在 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,复合菌系中有部分关键菌株的生长受到金霉素和土霉素的抑制。这与Selvam等^[20]的研究相似,即外源添加的土霉素量较多时,对微生物产生了毒害作用,抑制了堆肥中微生物的繁殖和活性,从而导致了降解能力的下降。而在此抑制浓度下分离出的复合微生物菌系则具有相对较高的活性,这正是本研究筛选高效降解纤维素和抗生素类兽药的微生物组合的基础。

尽管驯化筛选出的高效降解纤维素和抗生素类兽药(金霉素和土霉素)的三代复合菌系在第3d时对滤纸的分解效率都高于90%,对金霉素和土霉素的降解效率在发酵1周结束时都达到50%以上,但其对金霉素和土霉素的降解效率存在一定的差异,对金霉素的降解效率略高于土霉素的降解效率,这在一定程度上反映了土霉素的稳定性高于金霉素,与Li等^[19]和张树清等^[7]的研究结果一致。

4 结论

(1)以高温期堆肥样品为菌种来源,经多代优化组合,筛选驯化出一组能有效降解纤维素和抗生素类兽药(金霉素和土霉素)的复合菌系,该复合菌系对pH有较强的适应性。

(2)复合菌系的生长曲线表明:在0~3d内复合菌系的生长量处于对数生长期,3d后生长缓慢,5d后基本保持稳定。

(3)复合菌系在传代过程中的稳定性研究表明:在整个发酵过程中,第20、25、30代发酵液的pH变化趋势基本一致,均呈现先降后升的趋势;第20、25、30代复合菌系在第3d对滤纸(纤维素)分解率均达到了90%以上;而从复合菌系对金霉素和土霉素的降解率来看,三代之间差异很小,发酵1周结束时,复合菌系对金霉素和土霉素的降解率都超过了50%,表明复合菌系在分解纤维素和金霉素及土霉素方面具备稳定能力。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Arikian O A, Mulbry W, Rice C. Management of antibiotic residues from agricultural sources: Use of composting to reduce chlortetracycline residues in beef manure from treated animals[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164(2/3):483-489.
- [3] 孔维栋, 朱永官. 抗生素类兽药对植物和土壤微生物的生态毒理学效应研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2007, 2(1):1-9.
KONG Wei-dong, ZHU Yong-guan. A review on ecotoxicology of veterinary pharmaceuticals to plants and soil microbes[J]. *Journal of Ecotoxicology*, 2007, 2(1):1-9.
- [4] 张慧敏, 章明奎, 顾国平. 浙北地区畜禽粪便和农田土壤中四环素类抗生素残留[J]. *生态与农村环境学报*, 2008, 24(3):69-73.
ZHANG Hui-min, ZHANG Ming-kui, GU Guo-ping. 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.
- [5] Hamscher G, Szczesny S, Abu-Qre A, et al. Substances with pharmacological effects including homonally active substances in the environment identification of tetracyclines in soil fertilized with animal slurry[J]. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 2000, 107(8):332-334.
- [6] 李国学, 张福锁. 固体废物堆肥化与有机复混肥生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000:75-98.
LI Guo-xue, ZHANG Fu-suo. Solid wastes composting and organic fertilizer production[M]. Beijing: Chemical Industrial Press, 2000:75-98.
- [7] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 高温堆肥对畜禽粪中抗生素降解和重金属钝化的作用[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(2):337-343.
ZHANG Shu-qing, ZHANG Fu-dao, LIU Xiu-mei, et al. Degradation of antibiotics and passivation of heavy metals during thermophilic composting process[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(2):337-343.
- [8] Rikan O, Mulbry W, Rice C. Management of antibiotic residues from agricultural sources: Use of composting to reduce chlortetracycline residues in beef manure from treated animals[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164(2):483-489.
- [9] 潘 寻, 强志民, 贲伟伟. 高温堆肥对猪粪中多类抗生素的去除效果[J]. *生态与农村环境学报*, 2013, 29(1):64-69.
PAN Xun, QIANG Zhi-min, BEN Wei-wei. Effects of high-temperature composting on degradation of antibiotics in swine manure [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2013, 29(1):64-69.
- [10] Tuomela M, Vikman M, Halakka A, et al. Biodegradation of lignin in a compost environment: A review [J]. *Bioresource Technology*, 2000, 72(2):169-183.
- [11] 沈东升, 何虹葵, 汪美贞, 等. 土霉素降解菌 TJ-1 在猪粪无害化处理中的作用[J]. *环境科学学报*, 2013, 33(1):147-153.
SHEN Dong-sheng, HE Hong-zhen, WANG Mei-zhen, et al. The role of oxytetracycline-degrading bacterium TJ-1 on the hazard-free treatment of pig manure[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(1):147-153.
- [12] 崔宗均, 李美丹, 朴 哲, 等. 一组高效稳定纤维素分解菌复合系 MC1 的筛选及功能[J]. *环境科学*, 2002, 23(3):36-39.
CUI Zong-jun, LI Mei-dan, PIAO Zhe, et al. Selection of a composite microbial system MC1 with efficient and stability cellulose degradation bacteria and its function[J]. *Environmental Science*, 2002, 23(3):36-39.
- [13] 牛俊玲, 李国学, 崔宗均, 等. 堆肥中高效降解纤维素-林丹复合菌系的构建及功能研究[J]. *环境科学*, 2005, 26(4):210-214.

- NIU Jun-ling, LI Guo-xue, CUI Zong-jun, et al. Construction and function of a high-efficient complex microbial system to degrade cellulose and lindane in compost[J]. *Environmental Science*, 2005, 26(4): 210-214.
- [14] 牛俊玲, 崔宗均, 秦莉, 等. 不同培养条件对堆肥中降解纤维素林丹复合菌系分解能力的影响[J]. 农业工程学报, 2008, 24(1): 235-240.
- NIU Jun-ling, CUI Zong-jun, QIN Li, et al. Effects of cultural conditions on the capability of complex microbial system to degrade cellulose and lindane in composting[J]. *Transactions of the CSAE*, 2008, 24(1): 235-240.
- [15] Updegraff D M. Semimicro determination of cellulose in biological materials[J]. *Analytical Biochemistry*, 1969, 32: 420-424.
- [16] 秦莉, 高茹英, 李国学, 等. 外源复合菌系对堆肥纤维素和金霉素降解效果的研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(4): 820-823.
- QIN Li, GAO Ru-ying, LI Guo-xue, et al. Decomposition effect of additive of composite microbial system on cellulose and chlortetracycline in composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(4): 820-823.
- [17] 李红, 高茹英, 秦莉, 等. 堆肥中土霉素和金霉素的液相色谱荧光检测方法[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(20): 10839-10840, 10842.
- LI Hong, GAO Ru-ying, QIN Li, et al. HPLC-fluorescence detection on oxytetracycline and chlortetracycline in compost[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2010, 38(20): 10839-10840, 10842.
- [18] De Liguoro M, Cibin V, Capolongo F, et al. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil[J]. *Chemosphere*, 2003, 52(1): 203-212.
- [19] Li L L, Huang L D, Chung R S, et al. Sorption and dissipation of tetracyclines in soils and compost[J]. *Pedosphere*, 2010, 20(6): 807-816.
- [20] Wang H Y, Fan B Q, Hu Q X, et al. Effect of inoculation with *Penicillium expansum* on the microbial community and maturity of compost[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(24): 11189-11193.
- [21] Selvam A, Zhao Z Y, Wong J W C. Composting of swine manure spiked with sulfadiazine, chlortetracycline and ciprofloxacin[J]. *Bioresource Technology*, 2012, doi: 10.1016/j.biortech. 2011.12.073.