

孙雪微, 许修宏, 孟庆欣, 等. 牛粪堆肥中氨氧化细菌群落结构及其与环境因子相关性研究[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(1): 189-197.

SUN Xue-wei, XU Xiu-hong, MENG Qing-xin, et al. Research of ammonia oxidizing bacterial community structure and its correlation with environmental factors in cow manure composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(1): 189-197.

牛粪堆肥中氨氧化细菌群落结构及其与环境因子相关性研究

孙雪微, 许修宏*, 孟庆欣, 成利军, 张文浩, 门梦琪, 许本姝, 孙 瑜

(东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150030)

摘 要:采用 PCR-DGGE(聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳)和 Real-time PCR 技术,分析牛粪堆肥期间氨氧化细菌群落结构和数量的变化及其与理化因子的相关性。结果表明,在牛粪堆肥过程中氨氧化细菌数量变化范围为 $1.62 \times 10^6 \sim 3.80 \times 10^7$ copies·g⁻¹,在第 14 d 氨氧化细菌数量达到最高值;DGGE 图谱显示,堆肥各个时期氨氧化细菌群落组成存在明显的差异;Shannon 指数随着温度的变化而变化,在第 7 d 达到最大值 2.671 8;系统发育分析表明,氨氧化细菌均隶属于 β -变形菌纲不可培养的亚硝化螺菌属 *Uncultured Nitrosospira* sp. 和不可培养的亚硝化单胞菌属 *Uncultured Nitrosomonas* sp.,其中与 *Uncultured Nitrosospira* sp.相似性高的氨氧化细菌为优势菌,占 60%左右;冗余分析(Redundancy analysis, RDA)显示,温度和铵态氮等对氨氧化细菌群落结构的影响较大。研究表明在牛粪堆肥期间氨氧化细菌群落结构发生了明显的变化,同时证实了氨氧化细菌群落结构的变化受堆肥理化因子的影响。

关键词:牛粪堆肥;PCR-DGGE;Real-time PCR;氨氧化细菌;冗余分析

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2017)01-0189-09 doi:10.11654/jaes.2016-0960

Research of ammonia oxidizing bacterial community structure and its correlation with environmental factors in cow manure composting

SUN Xue-wei, XU Xiu-hong*, MENG Qing-xin, CHENG Li-jun, ZHANG Wen-hao, MEN Meng-qi, XU Ben-shu, SUN Yu

(College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The dynamic succession of ammonia oxidizing bacterial community structure and quantity were investigated using PCR-DGGE (polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis) and real-time PCR, the correlations between ammonia oxidizing bacterial community structure and physico-chemical factors were evaluated using redundancy analysis (RDA) in cow manure composting. The results showed that during composting the range of ammonia oxidizing bacteria were $1.62 \times 10^6 \sim 3.8 \times 10^7$ copies·g⁻¹, the amount of ammonia oxidizing bacteria reached the peak on 14 day; DGGE profile analysis showed that the community composition of ammonia oxidizing bacteria obviously varied in different periods of composting. Shannon index of ammonia oxidizing bacteria changed with composting temperature, reaching the maximum (2.671 8) on the 7th day. Phylogenetic analysis showed that ammonia oxidizing bacteria were clustered into two groups, *Uncultured Nitrosomonas* sp. and *Uncultured Nitrosospira* sp., which belonged to the β -Proteobacteria. the *Uncultured Nitrosospira* sp. which accounted for about 60% of ammonia oxidizing bacteria were predominant. RDA showed that ammonia and temperature ($P < 0.05$) effected significantly on the community structure of ammonia oxidizing bacteria. Significant changes of ammonia oxidizing bacterial community structure occurred in cow manure composting, and it is confirmed that the changes of ammonia oxidizing bacterial community structure were affected by environmental factors.

Keywords: cow manure composting; PCR-DGGE; Real-time PCR; ammonia oxidizing bacteria; redundancy analysis

收稿日期:2016-07-25

作者简介:孙雪微(1991—),女,硕士研究生,研究方向为微生物学。E-mail:910236195@qq.com

* 通信作者:许修宏 E-mail:xuxiuhong@neau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(31372351,31672469)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (31372351,31672469)

随着我国畜禽养殖业的大规模发展,畜禽粪便排放量也在逐年递增,给环境带了巨大的压力^[1]。好氧堆肥是一种对牛粪等有机固体废弃物进行资源化、无害化和稳定化的经济高效的处理方法^[2]。畜禽粪便经堆肥处理后转变成有机肥料,实现了资源再利用,但在堆肥过程中,往往伴随着严重的氮素损失,一般损失量为初始总氮量的17%~76%^[3],既降低了堆肥产品的质量,也会释放臭气和氮氧化物等气体,对环境造成二次污染^[4]。因此,控制堆肥过程氨氧化反应造成的氮素损失,已成为提高堆肥质量的重要途径之一。

硝化作用作为全球氮循环最重要的环节之一,以亚硝酸盐作为载体将氨盐氧化成硝酸盐^[5]。由氨氧化细菌催化的氨氧化反应是硝化作用的限速步骤,在全球氮素生物化学循环中起着重要的作用^[6]。氨氧化细菌属于专性能自养的功能性微生物^[7],其驱动的氨氧化反应是通过氨单加氧酶(Ammonia monooxygenase, AMO)催化,编码 AMO 基因来完成的^[8]。随着现代分子生物学技术的发展,对氨氧化细菌群落结构的研究也引起了国内外研究者的关注,如 Yamada 等^[9]在氨含量较高的牛粪堆肥中检测到了氨氧化细菌群落的动态变化,邱珊莲等^[10]在鸡粪堆肥中发现氨氧化细菌占据优势地位。但在堆肥领域中,氨氧化细菌的理论知识仍未完善,无法全面地对生产实践起到理论指导的作用,所以,将氨氧化细菌作为研究对象,研究其群落结构的动态演替及其与环境因子之间的相关性,对于揭示堆肥过程中氮素转移与变化规律具有深远的意义。

本研究采用变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)和 Real-time PCR 技术检测牛粪堆肥过程中氨氧化细菌群落结构及数量的动态变化,同时采用冗余分析(Redundancy analysis, RDA)方法分析氨氧化细菌群落结构与堆肥环境因子之间的相关性,来了解堆肥过程中氮素的转移与转化规律,为减少氮素损失提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 堆肥及样品采集

堆肥材料由牛粪和水稻秸秆组成(表1)。牛粪源于哈尔滨幸福乡奶牛养殖场,水稻秸秆源于哈尔滨市香坊区东北农业大学实验基地。将水稻秸秆截成5 cm左右,与牛粪按质量1:3.5的比例均匀混合,并调整水分含量为65%~70%,置于规格为50 cm×50 cm×100 cm(长×宽×高)的堆肥模拟容器中,每隔30 min

通风一次,采用上、中、下三点取样方式,均匀混合,每次取样后翻堆。堆肥过程共36 d,取样时间为:原始样品第1 d,升温阶段第2 d,高温阶段第3、4、7、11、14 d,腐熟阶段第19、25、36 d,样品编号分别为D1、D2、D3、D4、D7、D11、D14、D19、D25和D36。堆肥样品分为两份:一份在-4℃储存,用于理化指标的测定;另一份在-80℃储存,用于DNA提取。

表1 堆肥材料的主要成分

Table 1 Properties of raw materials for composting

堆肥材料 Materials	含水率 Water content/%	TOC/%	TN/%	C/N
牛粪	28.69	36.72	2.17	16.92
秸秆	12.14	42.63	0.84	50.75

1.2 理化指标测定

用 LNI-TUT325 数字电子温度计测定堆体上、中、下三个位置的温度。堆肥样品的 pH 采用鲍士旦^[11]的农化分析方法进行测定。水溶性铵态氮和硝态氮以2 mol·L⁻¹氯化钾溶液浸提,采用连续流动分析仪(AA3,德国)测定其含量。堆肥潜在硝化能力(PAO)的测定采用 He 等^[12]的研究方法进行测定。称取10 g堆肥样品,置于100 mL 25 mg N·L⁻¹ NH₄Cl 缓冲液中,25℃,150 r·min⁻¹恒温摇床振荡24 h,每隔4 h取培养液一次,用连续流动分析仪测定 NO₂-N 的含量。全碳和全氮分别采用重铬酸钾容量法和凯氏定氮法^[13]测定。

1.3 DNA 提取和 PCR 扩增

取堆肥样品3~5 g,采用 Liu 等^[13]的方法提取堆肥样品的总 DNA,用1%的琼脂糖凝胶电泳检测后,用 DNA 纯化试剂盒(Omega,美国)纯化回收 DNA,再用1%的琼脂糖凝胶电泳检测结果,于-20℃的冰箱保存备用。

PCR 扩增采用氨氧化细菌的16S rRNA 特异性引物进行巢式 PCR(Nested PCR)扩增,引物序列和反应程序见表2。第一轮,反应体系为25 μL,包含400 μmol·L⁻¹ dNTP 2.5 μL,10×PCR Buffer(含 MgCl₂)2.5 μL,引物对各0.2 μL(上游引物为 CT0189fAB 与 CT0189fC 按照2:1的比例混合,下游引物为 CT0654r)^[14],Taq 聚合酶0.3 μL,模板 DNA 0.5 μL,添加无菌水调整终体积到25 μL。PCR 扩增产物大小为465 bp,将其稀释100倍作为第二轮 PCR 反应的 DNA 模板。第二轮 PCR 扩增反应条件同上,引物选用细菌特异性引物 338f-GC 和 518r^[15],PCR 扩增产物

表 3 堆肥过程中理化性质的变化

Table 3 Changes in physic-chemical properties in composting

时间/d	T/℃	pH	C/N	NH ₄ ⁺ /mg·kg ⁻¹	NO ₃ ⁻ /mg·kg ⁻¹	PAO/ng N·g ⁻¹ ·h ⁻¹
1	17	8.69	35.7	519.2	78.2	41.4
2	40	8.75	33.9	553.2	105	55.6
3	55	8.79	32.2	685.6	117.4	47.8
4	61	8.85	30.6	984.2	126.2	59.2
7	65	8.71	29.4	740.2	221.4	94.5
11	59	8.55	28.1	583.8	310.3	54.9
14	55	8.33	25.9	451.8	376.7	49.9
19	47	8.32	23.7	440.4	405.6	38.5
25	27	8.29	21.2	413.2	432.9	33.0
36	21	8.14	19.6	406.6	465.2	34.1

由于过多的铵态氮和过高的温度,在一定程度上抑制了微生物的活性,使硝态氮生成速度减缓^[24]。PAO 的变化范围是 33.0~94.5 ng N·g⁻¹·h⁻¹, 在第 7 d 达到最大值。

2.2 样品总 DNA 的提取和 PCR 的扩增

采用 Liu 等^[13]的研究方法成功地提取了所用堆肥样品的总 DNA,其长度约 23 kb。将纯化后的 DNA 作为进行巢式 PCR 第一轮模板,所有样品均获得了特异性扩增产物,其大小为 465 bp 左右,将其稀释 100 倍作为第二轮 PCR 的 DNA 模板,均得到了 234 bp 左右的特异性片段。

2.3 氨氧化细菌丰度的分析

采用 Real-time PCR 技术对堆肥样品进行氨氧化细菌 16S rRNA 基因的定量分析,获得的氨氧化细菌基因丰度如图 1 所示。在整个堆肥过程中,氨氧化细菌基因丰度较低,基因拷贝数的变化范围为 1.62×10⁶~3.8×10⁷ copies·g⁻¹,在堆肥前期氨氧化细菌的基因拷贝数持续下降,第 14 d 达到最大值。氨氧化细菌基因丰度基本上都处于同一数量级,波动范围并不是特别大。这与 Lu 等^[22]的研究结果一致,在淡水水产养殖池塘中氨氧化细菌的基因丰度较低。随着堆肥进入发酵高温期,氨氧化细菌基因拷贝数明显降低。这可能与温度影响有关,温度过高,抑制了多数微生物的生长繁殖,仅一些耐热微生物在快速生长,所以高温期的氨氧化细菌相对较少^[23],而在堆肥第 14 d,堆体温度达到 55 ℃,随后进入降温阶段,有利于微生物快速生长,所以氨氧化细菌的基因拷贝数明显增多。在本研究中高铵离子浓度可能是导致氨氧化细菌丰度低的另一个关键原因,随着铵态氮的逐渐积累,在一定

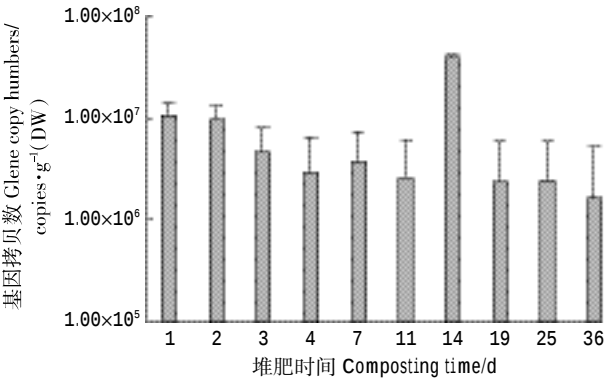


图 1 堆肥过程中氨氧化细菌的基因拷贝数

Figure 1 amoA gene copy numbers per gram compost sample during composting

程度上抑制了氨氧化细菌的生长,在堆肥后期受铵态氮浓度的影响,氨氧化细菌的生长减缓,导致基因丰度下降^[24]。这与 Wuchter 等^[25]的研究结果一致,在海水中氨氧化微生物的基因丰度与铵态氮的浓度显著负相关。

2.4 氨氧化细菌 16S rRNA 基因群落多样性的分析

采用氨氧化细菌 16S rRNA 基因特异性引物对扩增产物进行 DGGE,得到的氨氧化细菌 DGGE 图谱如图 2 所示。图谱中各个泳道的条带有较大的差异,说明堆肥各时期氨氧化细菌的群落变化较剧烈。利用 Quantity One 软件进行数字化处理,聚类分析(图 3)结果也显示了氨氧化细菌在堆肥过程中群落结构存在明显的差异,泳道 3 和 8、6 和 10、5 和 7、4 和 9 彼此聚合,相似性系数分别达 49%、31%、46%和 59%。这说明各泳道群落组成相似性较高,而泳道 1 和 2 并未与其他泳道聚为一类,表明进入高温期后氨氧化细菌的菌群组成发生了剧烈的变化。

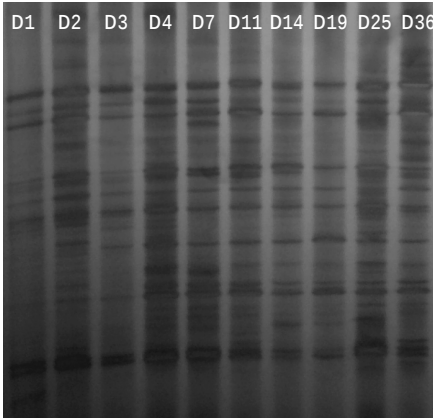


图 2 牛粪堆肥中氨氧化细菌 DGGE 图谱

Figure 2 DGGE profile of ammonia oxidizing bacteria in cow manure composting

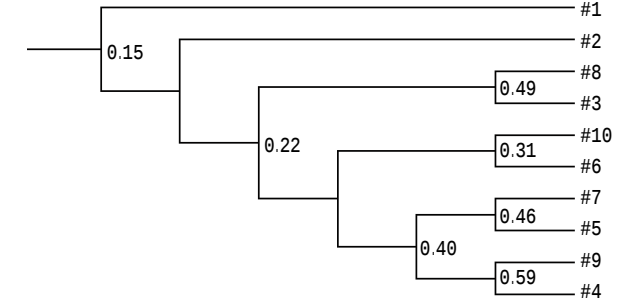


图 3 氨氧化细菌 DGGE 图谱聚类分析

Figure 3 Cluster analysis of DGGE profile of ammonia oxidizing bacteria in cow manure composting

通过 Quantity One 软件计算出氨氧化细菌群落的多样性指数、均匀度指数和丰富度指数(表 4),结果显示,均匀度指数变化不大,但多样性指数和丰富度指数出现了明显的改变。随着堆肥的进行,氨氧化细菌的多样性指数呈现先升后降的趋势,在第 7 d 达到最大值 2.671 8。这可能是因为堆肥前期,铵态氮等硝化作用底物含量充足,营养物质丰富,利于氨氧化细菌的生长,导致多样性指数上升;而随着堆肥的不断发酵、温度的升高和铵态氮浓度的下降,部分氨氧化细菌的生长受到了影响而被淘汰,使多样性指数逐渐减小^[26]。

2.5 系统发育分析

氨氧化细菌 DGGE 图谱优势条带切胶测序比对结果见表 5。序列比对结果表明,大多数序列与不可培养的亚硝化螺菌属 *Uncultured Nitrosospira* sp. 和不可培养的亚硝化单胞菌属 *Uncultured Nitrosomonas* sp. 这两个属的细菌相似度较高,在 90%~100%之间,

表 4 堆肥过程中氨氧化细菌 Shannon 指数、均匀度指数和丰富度指数的变化

Table 4 Changes in Shannon, evenness and richness index of ammonia oxidizing bacteria in composting			
堆肥时间/d Composting time	Shannon 指数 Shannon index	均匀度指数 Evenness index	丰富度指数 Richness index
1	1.919 2	0.873 5	9
2	2.580 4	0.930 9	16
3	2.082 3	0.868 4	11
4	2.654 5	0.886 1	15
7	2.671 8	0.963 6	16
11	2.378 0	0.901 1	14
14	2.528 3	0.917 5	12
19	2.492 2	0.897 7	12
25	2.191 0	0.881 6	12
36	2.508 7	0.956 1	17

表 5 DGGE 优势条带序列比对结果

Table 5 Results of BLAST analysis on the sequences of dominant DGGE bands

条带编号 Band No.	GenBank 登录号 GenBank accession number	比对菌 Relative bacterium	相似度 Similarity/%
1	GU472975	Uncultured Nitrosospira sp.	93
2	AM418431	Uncultured Nitrosospira sp.	90
3	JQ673436	Uncultured Nitrosomonas sp.	92
4	HQ230329	Uncultured Nitrosomonas sp.	98
5	KF935269	Uncultured Nitrosomonas sp.	90
6	EU127381	Uncultured Nitrosomonas sp.	92
7	AB713950	Uncultured Nitrosomonas sp.	94
8	GU097361	Uncultured Nitrosospira sp.	93
9	GU473117	Uncultured Nitrosospira sp.	94
10	FN562083	Uncultured Nitrosospira sp.	93
11	EU127381	Uncultured Nitrosomonas sp.	92
12	NR104816	Nitrosovibrio tenuis	98
13	LC053144	Uncultured Nitrosomonas sp.	90
14	EF042986	Uncultured Nitrosospira sp.	98
15	DQ497441	Uncultured Nitrosospira sp.	97
16	AY722814	Uncultured Nitrosospira sp.	94
17	GU097360	Uncultured Nitrosospira sp.	94
18	KF483598	Nitrosomonas marina strain S22	95
19	GU097354	Uncultured Nitrosospira sp.	93
20	HM134871	Uncultured Nitrosospira sp.	95
21	JX505297	Uncultured Nitrosomonas sp.	95
22	Y10128	Nitrosospira sp.	100
23	FJ446563	Uncultured Nitrosospira sp.	99
24	EF175101	Nitrosospira sp.	99
25	AF386754	Nitrosospira sp.	99

其中,与 *Uncultured Nitrosospira* sp.相似度高的氨氧化细菌为优势菌,约占 60%,而 *Uncultured Nitrosomonas* sp.菌群约占 40%。由所获得优势菌序列构建的氨氧化细菌系统发育树见图 4。由图可知,氨氧化细菌序列被划分成 *Uncultured Nitrosospira* sp. 和 *Uncultured Nitrosomonas* sp.两大分支,其中 *Uncultured Nitrosospira* sp. 分支占优势。

通过氨氧化细菌 16S rRNA 基因系统发育树分析可知,在牛粪堆肥过程中氨氧化细菌都隶属于 β -变形菌纲,多数序列与 *Uncultured Nitrosospira* sp. 和 *Uncultured Nitrosomonas* sp. 的相似度较高。这与虞泳等^[27]研究结果一致,在农业好氧堆肥中也发现了 *Nitrosomonas* sp.和 *Nitrosospira* sp.优势菌群。由此推测,在堆肥过程中氨氧化细菌主要是 *Nitrosomonas* sp.和

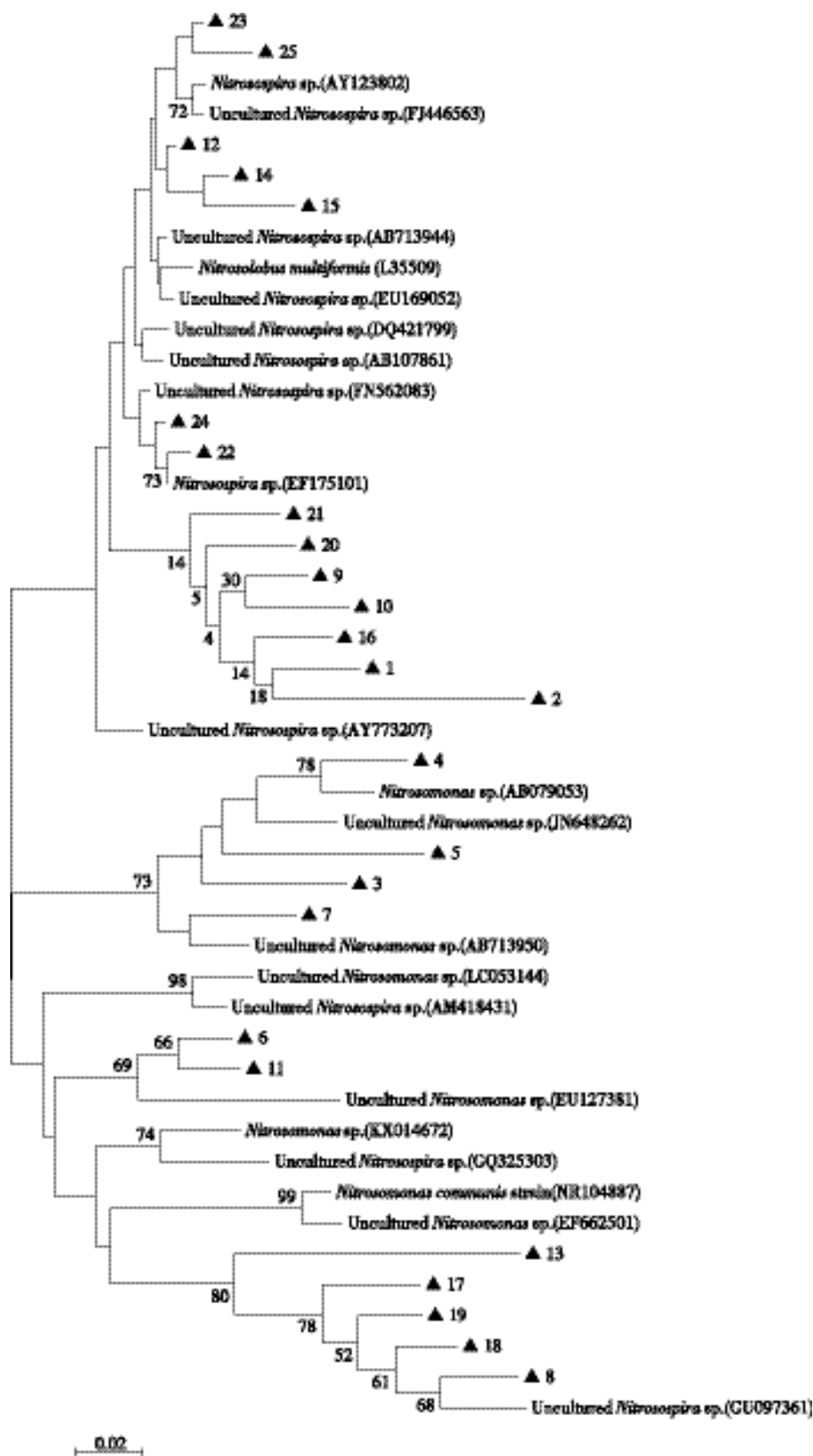


图 4 牛粪堆肥中氨氧化细菌 16S rRNA 基因的系统发育树

Figure 4 Phylogenetic tree of ammonia oxidizing bacteria based on 16S rRNA gene in cow manure composting

Nitrosospira sp. 菌。在本研究中,以 *Nitrosospira* sp. 属的氨氧化细菌为优势菌群,可能是由于高浓度的铵态氮含量所引起的。Enwall 等^[28]的研究结果表明,在铵态氮浓度较高的条件下, *Nitrosospira* sp. 菌生长更为旺盛。

2.6 氨氧化细菌群落结构与堆肥环境因子的冗余分析

采用冗余分析方法分析堆肥过程中氨氧化细菌群落结构变化与理化因子的相关性,结果见图 5。二维排序轴的前两个排序轴分别解释了种群与环境的积累变化率为 79.2% 和 24.4%。在二维排序图中,箭头连线的长短表示群落与该环境因子之间相关系数的大小,箭头连线与排序轴的夹角表示该环境因子与排序轴相关性的大小,夹角越大,其相关性越小^[29]。硝态氮和 PAO 箭头连线较长,铵态氮、C/N、温度和 pH 的箭头连线较短,所以根据箭头连线的长度可知,环境因子对氨氧化细菌群落结构影响的相关性大小顺序为 PAO>硝态氮>铵态氮>C/N>温度>pH。从图中也可以看到,随着堆肥的进行,氨氧化细菌的群落结构变化显著,在升温阶段(day2 和 day3),氨氧化细菌群落结构较为相似,而在高温阶段与降温阶段,氨氧化细菌群落结构剧烈变化。

通过冗余分析可知,温度、PAO、铵态氮、硝态氮和 pH 对氨氧化细菌群落结构的影响较大,基于手动选择的冗余分析表明温度和铵态氮的影响较为显著($P<0.05$),这与 Zhang 等^[30]研究结果相似,即环境因子显著影响着氨氧化细菌的群落结构变化。温度能够影响氨氧化细菌的生长速度、酶反应动力学以及化合物的溶解度等^[31],会对氨氧化细菌群落结构产生明显的影响。在本研究的堆肥体系中,随着温度的升高,氨

氧化细菌的群落结构发生了明显的变化,表明氨氧化细菌对温度的适应情况各不相同,仅部分耐高温氨氧化细菌存活。这与 Yamamoto 等^[32]的研究结果一致,即在堆肥高温期氨氧化细菌是唯一的耐热硝化细菌。

铵态氮作为氨氧化反应的直接底物,其浓度与氨氧化细菌的数量与种类有直接关系^[33]。宋亚娜等^[34]的研究指出,提高铵浓度可以促进间作土氨氧化细菌的生长,对氨氧化细菌的群落结构和多样性产生影响。在本研究中,堆肥前期铵态氮不断积累,营养物质丰富,氨氧化细菌生长旺盛,而在堆肥后期,由于铵态氮浓度逐渐下降,氨氧化细菌因底物浓度减小而衰退,表明铵态氮对氨氧化细菌的群落结构的变化有十分显著的影响。

3 结论

(1)堆肥样品氨氧化细菌 16S rRNA 基因丰度的变化范围是 $1.62 \times 10^6 \sim 3.80 \times 10^7$ copies $\cdot$ g⁻¹, 在第 14 d 氨氧化细菌的基因拷贝数达到最大值。

(2)不同时期堆肥样品氨氧化细菌多样性指数存在明显的差异,随温度达到最高值,氨氧化细菌的多样性指数也达到最大。

(3)通过序列比对和系统发育分析可知,氨氧化细菌均隶属于 β -变形菌纲,多数序列与 *Uncultured Nitrosospira* sp. 和 *Uncultured Nitrosomonas* sp. 属的细菌相似度较高,与 *Uncultured Nitrosospira* sp. 属相似度高的氨氧化细菌为优势菌。

(4)冗余分析表明,堆肥环境因子对氨氧化细菌群落结构的影响显著,其相关性大小为 PAO>硝态氮>铵态氮>C/N>温度>pH,其中温度和铵态氮对氨氧化细菌群落结构的影响更为显著。

参考文献:

- [1] 朱兆良, David N, 孙 波. 中国农业面源污染控制对策[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2006.
ZHU Zhao-liang, David N, SUN Bo. Agricultural non-point source pollution control measures in China[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2006.
- [2] Wei Y S, Fan Y B, Wang M J, et al. Composting and compost application in China[J]. Resources Conservation & Recycling, 2000, 30(4): 277-300.
- [3] Barrington S C D, Trigui M, Knight W. Effect of carbon source on compost nitrogen and carbon losses[J]. Bioresource Technology, 2002, 83(3): 189-194.
- [4] 殷 震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 二版. 北京: 科学出版社, 1997.
YIN Zhen, LIU Jing-hua. Animal virology[M]. 2nd Edition. Beijing:

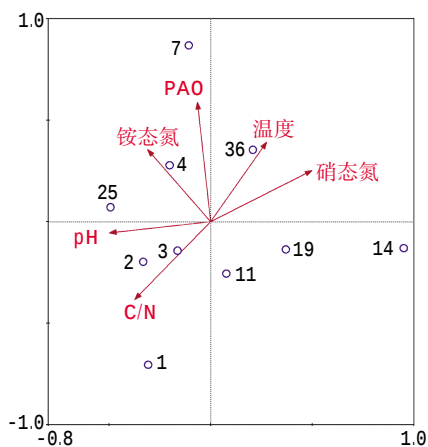


图 5 氨氧化细菌群落结构的冗余分析(RDA)

Figure 5 Redundancy analysis(RDA) of ammonia oxidizing bacterial community structure during composting

- Science Press, 1997.
- [5] Könneke M, Bernhard A E, Torre J R D L, et al. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon[J]. *Nature*, 2005, 437(7058):543-546.
- [6] Lullo L D, Adesse R, Comegna C, et al. Influence of effluent irrigation on community composition and function of ammonia-oxidizing bacteria in soil[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2001, 67(8):3426-3433.
- [7] Teske A, Alm E, Regan J M, et al. Evolutionary relationships among ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria[J]. *Journal of Bacteriology*, 1994, 176(21):6623-6630.
- [8] Zeng J, Zhao D Y, Huang R, et al. Abundance and community composition of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in two different zones of Lake Taihu[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2012, 58(8):1018-1026.
- [9] Yamada T, Araki S, Ikeda-Ohtsubo W, et al. Community structure and population dynamics of ammonia oxidizers in composting processes of ammonia-rich livestock waste[J]. *Systematic & Applied Microbiology*, 2013, 36(5):359-367.
- [10] 邱珊莲, 张少平, 翁伯琦, 等. 鸡粪菌渣好氧堆肥过程中氨氧化古菌及氨氧化细菌群落的动态变化[J]. *农业环境科学学报*, 2016, 35(3):573-583.
- QIU Shan-lian, ZHANG Shao-ping, WENG Bo-qi, et al. Dynamics of ammonia-oxidizing archaea and ammonia-oxidizing bacteria during composting of chicken manure and mushroom cultural waste[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(3):573-583.
- [11] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 三版. 北京: 中国农业出版社, 2008:39-89.
- BAO Shi-dan. Soil and agriculture chemistry analysis[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2008:39-89.
- [12] He J Z, Shen J P, Zhang L M, et al. Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(9):2364-2374.
- [13] Liu J, Xu X H, Li H T, et al. Effect of microbiological inocula on chemical and physical properties and microbial community of cow manure compost[J]. *Biomass & Bioenergy*, 2011, 35(8):3433-3439.
- [14] Innerebner G, Knapp B, Vasara T, et al. Traceability of ammonia-oxidizing bacteria in compost-treated soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(5):1092-1100.
- [15] Li A J, Yang S F, Li X Y, et al. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates[J]. *Water Research*, 2008, 42(13):3552-3560.
- [16] Yang Q, Zhang J Z, Wang S, et al. Bacterial community structure and diversity in a black soil as affected by long-term fertilization[J]. *Pedosphere*, 2008, 18(5):582-592.
- [17] 唐 珠. 猪粪堆肥的理化特征及腐熟度评价研究[D]. 南京农业大学, 2011.
- TANG Zhu. Characterization and identification of maturity of pig manure composts[D]. Nanjing Agricultural University, 2011.
- [18] 张亚宁. 堆肥腐熟度快速测定指标和方法的建立[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- ZHANG Ya-ning. Studies on the foundation of simple indexes and mensuration of compost maturity[D]. Beijing: China Agriculture University, 2004.
- [19] 廖新伟, 吴银宝, 汪植三, 等. 堆体大小对猪粪堆肥影响和袋装堆肥的研究[J]. *农业工程学报*, 2003, 19(4):287-290.
- LIAO Xin-di, WU Yin-bao, WANG Zhi-san, et al. Effects of pile size and packaging on swine manure composting[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2003, 19(4):287-290.
- [20] 徐大勇, 黄为一. 人工接种堆肥和自然堆肥微生物区系与分子多样性的变化[J]. *生态与农村环境学报*, 2006, 22(1):29-33.
- XU Da-yong, HUANG Wei-yi. Variation of microflora and molecular polymorphism in inoculated and natural composts[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2006, 22(1):29-33.
- [21] 李海波, 廉 静, 李 敏, 等. 反硝化菌株 GW1 的筛选及特性研究[J]. *河北科技大学学报*, 2012, 33(2):184-189.
- LI Hai-bo, LIAN Jing, LI Min, et al. Isolation and characteristics of denitrifying bacterium strain GW1[J]. *Journal of Hebei University of Science and Technology*, 2012, 33(2):184-189.
- [22] Lu S M, Liao M J, Xie C X, et al. Seasonal dynamics of ammonia-oxidizing microorganisms in freshwater aquaculture ponds[J]. *Annals of Microbiology*, 2014, 65(2):651-657.
- [23] 诸葛健, 李华钟. 微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- ZHU Ge-jian, LI Hua-zhong. Microbiology[M]. Beijing: Science Press, 2009.
- [24] 董莲华, 杨金水, 袁红莉. 氨氧化细菌的分子生态学研究进展[J]. *应用生态学报*, 2008, 19(6):1381-1388.
- DONG Lian-hua, YANG Jin-shui, YUAN Hong-li. Research advances in molecular ecology of ammonia oxidizing bacteria[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(6):1381-1388.
- [25] Wuchter C, Abbas B, Coolen M J, et al. Archaeal nitrification in the ocean[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(33):12317-12322.
- [26] 杜雪晴, 廖新伟, 吴银宝, 等. 有机废弃物好氧堆肥系统中氨氧化微生物的研究进展[J]. *家畜生态学报*, 2014(9):1-7.
- DU Xue-qing, LIAO Xin-di, WU Xin-bao, et al. Advances of ammonia oxidizing microorganisms in organic waste aerobic composting system[J]. *Acta Ecologica Animalis Domastici*, 2014(9):1-7.
- [27] 虞 泳, 曾光明, 陈耀宁, 等. 农业废弃物好氧堆肥中氨氧化细菌的群落结构[J]. *环境科学*, 2011, 32(10):3067-3072.
- YU Yong, ZENG Guang-ming, CHEN Yao-ning, et al. Succession of ammonia-oxidizing bacteria community structure during agricultural waste composting[J]. *Chinese Journal of Environment Science*, 2011, 32(10):3067-3072.
- [28] Enwall K, Nyberg K, Bertilsson S, et al. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39(1):106-115.
- [29] Valentin-Vargas A, Root R A, Neilson J W, et al. Environmental factors influencing the structural dynamics of soil microbial communities

- during assisted phytostabilization of acid-generating mine tailings: A mesocosm experiment[J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 500/501:314-324.
- [30] Zhang J C, Zeng G M, Chen Y N, et al. Effects of physico-chemical parameters on the bacterial and fungal communities during agricultural waste composting[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3):2950-2956.
- [31] 曾光明, 黄国和, 袁兴中, 等. 堆肥环境生物与控制[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- ZENG Guang-ming, HUANG Guo-he, YUAN Xing-zhong, et al. Compost environmental biology and control[M]. Beijing: Science Press, 2006.
- [32] Yamamoto N, Oishi R, Suyama Y, et al. Ammonia-oxidizing bacteria rather than ammonia-oxidizing archaea were widely distributed in animal manure composts from field-scale facilities[J]. *Microbes and Environments*, 2012, 27:519-524.
- [33] Wang S Y, Wang Y, Feng X J, et al. Quantitative analyses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the sediments of four nitrogen-rich wetlands in China[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2011, 90(2):779-787.
- [34] 宋亚娜, Marschner P, 张福锁, 等. 小麦/蚕豆、玉米/蚕豆和小麦/玉米间作对根际细菌群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2006, 26(7):2268-2274.
- SONG Ya-na, Marschner P, ZHANG Fu-suo, et al. Effect of intercropping on bacterial community composition in rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum* L.), maize (*Zea mays* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.)[J]. *Acta oecologica Sinica*, 2006, 26(7):2268-2274.

“农业面源污染防治”专辑征稿启事

随着我国农业集约化程度的提高,农业投入品过量使用和农业废弃物不合理处置导致的农业面源污染日益突出,已经成为制约我国农业和农村可持续发展的重要因素。2015年4月,农业部发布《农业部关于打好农业面源污染防治攻坚战实施意见》,提出了农业面源污染防治“一控两减三基本”的总体思路、重点任务和工作要求。2016年12月5日,农业部副部长张桃林在全国农业资源环境与能源生态工作会上强调,“十三五”时期农业资源环境与能源生态工作要以农业废弃物资源化利用、农村能源转型升级、农业环境治理与保护为重点,坚决打赢农业面源污染防治攻坚战。农业面源污染防治不单纯是一个技术问题,更是一个耦合政策、经济、社会等多因素的系统工程。为了更好地促进我国农业面源污染防治的理论研究与技术应用,本刊拟于2017年7期(7月20号)出版“农业面源污染防治”专辑,以集中反映该领域在基础研究、技术研发、推广示范和政策管理等方面的国内外成果。

本专辑的特邀主编为 杨林章 研究员和 沈珍瑶 教授,欢迎国内外同行踊跃投稿!

征稿范围:

- (1)面源污染管理及政策研究
- (2)农业投入品(农药、化肥、农膜等)污染防治
- (3)畜禽、水产养殖污染防治
- (4)农村生活垃圾、污水处理
- (5)面源污染评价体系建立及应用实例

稿件要求:

稿件可以为综述或研究论文,以中文撰写,格式以《农业环境科学学报》规范为准。

截止日期:

2017年3月10日

投稿方式:

登录《农业环境科学学报》官网,进行在线投稿(首次投稿的作者需先完成作者注册),投稿备注中请注明“农业面源污染防治专辑”。

《农业环境科学学报》编辑部联系方式:

地址:天津市南开区复康路31号
E-mail: caep@vip.163.com

邮编:300191
官网: <http://www.aes.org.cn>

电话/传真:022-23674336