

锌污染对猪粪堆腐过程中微生物群落的影响

张卫娟¹, 谷洁^{1*}, 刘强², 高华¹

(1.西北农林科技大学资环学院, 陕西 杨凌 712100; 2.西北农林科技大学林学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:利用 Biolog 微平板技术,对不同浓度重金属 Zn 影响下堆料微生物群落多样性进行了研究。结果表明,较低浓度 Zn 处理 (Zn 含量为 400 mg·kg⁻¹) 的堆料升温快,高温持续时间长。微生物群落多样性指数和微生物群落主成分分析 (PCA) 指标均表明不同浓度重金属处理的堆料微生物群落有明显不同, Zn 含量为 400 mg·kg⁻¹ 的堆料微生物活性高, 有利于增加群落的丰富度和功能多样性, 与 Zn 含量为 1 000 mg·kg⁻¹ 的堆料、对照组堆料起分异作用的碳源主要为多聚物类和糖类。

关键词:猪粪; 重金属锌; 微生物群落

中图分类号: S141.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2011)07-1422-08

Effects of Zn Pollution on Microbial Community During Pig Manure Composting

ZHANG Wei-juan¹, GU Jie^{1*}, LIU Qiang², GAO Hua¹

(1.College of Resources Environment, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2.College of Forest, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Biolog micro-plate was adopted to study the effects of heavy metals Zn with different concentrations upon microbial communities diversity. The results showed that the temperature treated by low concentration of heavy metals Zn (400 mg·kg⁻¹) rised quickly, megathermal period related long. The microbial community diversity indices and principal component analyses demonstrated that the significant difference among different concentrations treatments of heavy metals Zn, Microbial activities of concentration treatments 400 mg·kg⁻¹ were high, which would be beneficial to increase communities richness and function diversity carbon sources were carbohydrate and polymers during the differentiation process treated with high concentration of heavy metals Zn (1 000 mg·kg⁻¹) and CK.

Keywords: pig manure; heavy metals Zn; microbial community

堆肥基质中的重金属能够通过作用于微生物群落而影响堆肥的进程。当重金属含量较高时会导致微生物大量死亡, 或使微生物失去正常的生理功能, 无法降解堆肥中的有机物, 从而影响堆肥的腐熟度以及堆肥的质量^[1]。随着猪饲料中铜锌添加量的增加, 其排泄量可高达摄入铜锌的 95% 以上, 其中粪便中铜和锌占总排泄量的 95% 以上^[2]。研究重金属 Zn 污染下微

生物群落多样性对揭示堆腐的生物行为有重要意义。

Biolog 检测法是一种通过测试微生物对单一碳源利用程度, 反映微生物群体水平的生理轮廓以及描述微生物群落功能多样性的分析方法^[3]。1991 年, Garland 和 Mills 首次将这种方法应用于土壤微生物群落的研究^[4]。此后该方法在研究堆肥微生物群落结构和鉴定堆肥过程中微生物种群中发挥了重要作用。Atkinson C F 等^[5]以果皮纸屑为原料研究了条垛式好氧堆肥过程中微生物群落结构特征。Insam H 等^[6]采用 Biolog 微量板检测了开仓式堆肥中微生物群落结构的变化。Fang M 等^[7]研究表明煤灰的添加虽未改变堆肥过程中的主导菌种, 但是导致了嗜热菌数量和种类的减少。关于重金属对堆料中微生物群落结构的影响鲜见报道, 本文采用 Biolog 微量板分析法对堆料中

收稿日期: 2011-01-03

基金项目: 国家自然科学基金 (40771109, 40871119); 科技部星火计划 (2008GA850013, 2008GA850007); 农业部 948 项目 (2010-Z20)

作者简介: 张卫娟 (1984—), 女, 陕西商洛人, 硕士研究生, 主要从事农业废弃物的资源化利用。E-mail: weijuan1106@163.com

* 通讯作者: 谷洁 E-mail: gujoyer@sina.com.cn

微生物群落活性及对分异碳源的利用进行测定和分析,确定其对堆料中微生物群落多样性变化的影响,旨在揭示堆料堆腐过程中的生物环境行为。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以农家养殖厂猪粪、秸秆和菌棒为堆肥材料,原材料养分含量见表 1。

1.2 试验方法

本试验于 2010 年 3 月 9 日至 30 日在西北农林科技大学资源环境学院室外大棚进行。首先,将小麦秸秆、农家猪粪(农民以饲草和麦麸养猪,不含饲料添加剂)、菌棒(栽培香菇后的废料)混合,调节混合物 C/N 为(30~35):1^[8],加水使堆料水分含量为 55%~65%^[4],添加腐解复合微生物菌剂(由西北农林科技大学土壤肥料研究所提供),用于增加秸秆和粪便在固体发酵过程中的微生物数量,迅速提高发酵体的温度,降低粪便的臭气,从而促进秸秆和粪便的腐解速度^[9],将以上处理的混合有机物质分别装入堆肥装置中(图 1)。试验模拟重金属 Zn 污染猪粪堆肥,设 3 个不同的重金属污染水平(表 2),以无重金属施入的堆料作为对照。堆料不同部位插有热敏温度计(精度 0.1 ℃),记录堆肥物料的温度变化。定期从堆肥装置中部采样,混匀,4 ℃冰箱冷藏,于 48 h 内进行堆料微

表 2 重金属 Zn 影响下的堆肥试验设计(mg·kg⁻¹)

Table 2 Experimental design of compost effect on Zn heavy metal(mg·kg ⁻¹)			
处理 Treatment	CK	A1	A2
Zn 含量 Zinc content	0	400	1 000

注:重金属 Zn 以 ZnSO₄·7H₂O 的形式施入。

生物群落多样性分析。

1.3 堆肥装置

堆腐装置主要由 3 个高 1.0 m、内径 0.6 m、外径 0.7 m 的圆柱形发酵罐(反应器)组成。发酵罐用双层不锈钢制成外壳,层间有 0.5 cm 厚的保温材料;底部为带有小孔的不锈钢圆板,堆腐材料混匀置于其上,空气从罐底部进入,通过圆板的透气小孔进入罐内,穿过堆腐物料后从上部排出(图 1)。

1.4 项目测定与方法

1.4.1 堆肥过程中温度的测定

将温度计插入堆料中,深度为 25~30 cm,在每日 9:00、16:00 测定温度,以两次温度的平均值作为堆体温度,绘制温度变化曲线。

1.4.2 堆肥不同时期微生物群落功能多样性测定

微生物碳源利用多样性应用 Biolog 生态测试板(ECO MicroPlate,美国 Matrix Technologies Corporation 生产)测定。其理论依据是:Biolog 代谢多样性类型的变化与群落组成的变化相关^[10]。

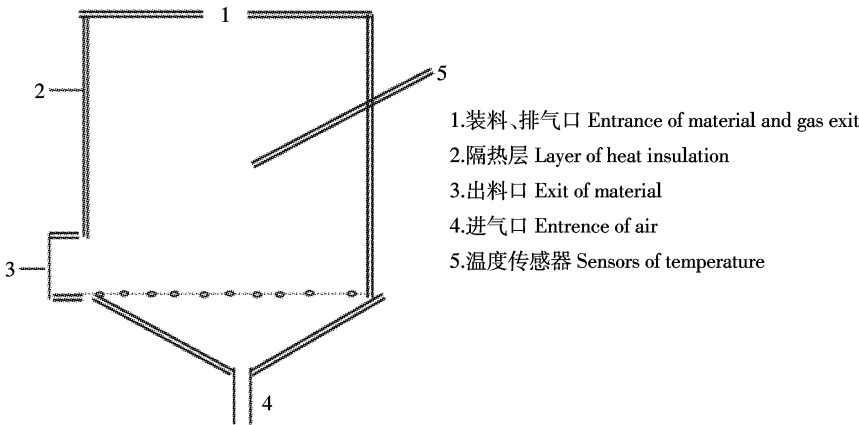


图 1 堆肥发酵装置图

Figure 1 Diagram of composting device

表 1 堆肥原材料养分含量(烘干样)

Table 1 Nutrient contents in the raw materials for composting (oven-dried base)

试验材料	有机碳/g·kg ⁻¹	全氮/g·kg ⁻¹	全磷/g·kg ⁻¹	全钾/g·kg ⁻¹	C/N	重金属 Zn/mg·kg ⁻¹
农家猪粪	409.70	34.50	9.70	10.58	11.88	244.62
秸秆	394.32	5.74	0.47	27.39	68.70	35.65
菌棒	317.20	13.30	5.72	32.80	23.85	306.58

具体操作步骤如下:称取相当于 5 g 干重的新鲜堆料加入到装有 45 mL 0.85% NaCl 无菌溶液的三角瓶中,摇床振荡 30 min,转速为 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。将得到的微生物悬浮液采用 10 倍稀释法稀释至浓度为 10^{-3} 。在超净工作台上,接种微生物悬浮液于 ECO 板中,每孔 150 μL ,每样 1 板,每板 3 次重复。将接种后的测试板加盖在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 生化培养箱中连续培养 240 h,每隔 12 h 用 Biolog 自动读数装置在 590 nm 下读数^[11]。

1.5 数据处理

采用孔平均颜色变化率法测定微生物利用单一碳源的能力。孔平均颜色变化率(Average Well-Color Development, $AWCD$):

$$AWCD = \sum (C_i - R) / 31$$

式中: C_i 为各反应孔在 590 nm 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: $C_i - R \geq 0$ ^[12]。

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。

群落丰富度指数(E):

$$E = H / \ln S$$

式中: S 为颜色发生变化的孔数($AWCD > 0.2$ 代表该孔碳源被利用)。

测定数据采用 Microsoft Excel 2003 进行数据初步处理和制图,采用 SAS 6.12 软件包和 SPSS 16.0 软件进行主成分分析。

2 结果与分析

2.1 堆肥过程中温度的变化

温度是影响微生物活动和堆肥工艺过程的重要

因素,是堆肥状态的表观体现,堆温的高低决定堆肥速度的快慢^[14]。堆制初期堆料中富含易分解有机物,在好氧微生物的作用下快速分解,在此过程中产生大量热量促使堆体温度上升^[15]。当堆温升至 45°C 以上时就进入高温阶段,堆肥中的复杂有机物开始被强烈分解^[16],当温度小于 50°C 时即进入降温阶段^[17]。

由图 2 可见,各处理堆肥体系分别出现了升温期、高温期和降温期,经历了完整的堆肥过程。Zn 含量为 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 A1 处理堆体温度在第 5 d 就达到了 53.17°C ,高温期持续了 5 d,最高温度达 56.72°C 。无重金属 Zn 施入的 CK 处理和 Zn 含量为 $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 A2 处理均在第 7 d 达到 45°C 以上,高温期均持续了 3 d,最高温度分别为 52.75°C 和 50.50°C 。结果表明,Zn 含量为 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 A1 处理使得堆料升温较快,高温持续时间长。

2.2 重金属 Zn 在堆肥特征时期对微生物群落功能多样性的影响

2.2.1 ELISA 平均颜色变化率($AWCD$)

平均颜色变化率($AWCD$)表征微生物群落碳源利用率,是微生物群落利用单一碳源能力的重要指标,反映微生物活性、微生物群落生理功能多样性^[18]。 $AWCD$ 值越大,表明堆料中微生物的活性越高,密度越大。

从堆肥进程的 3 个不同时期来看, $AWCD$ 在 12 h 之前均很小,说明在 12 h 之内碳源基本未被利用;在 12~96 h 的培养时期, $AWCD$ 值迅速增加,微生物的活性大,代谢活动旺盛。96 h 之后, $AWCD$ 值变化速率缓慢,微生物的活性以及代谢基本趋于稳定。结果显示,微生物代谢的 $AWCD$ 值随时间变化曲线的形状符合一般微生物利用基质生长曲线的规律,存在适应期、指数期、稳定期和衰退期等生长时期。

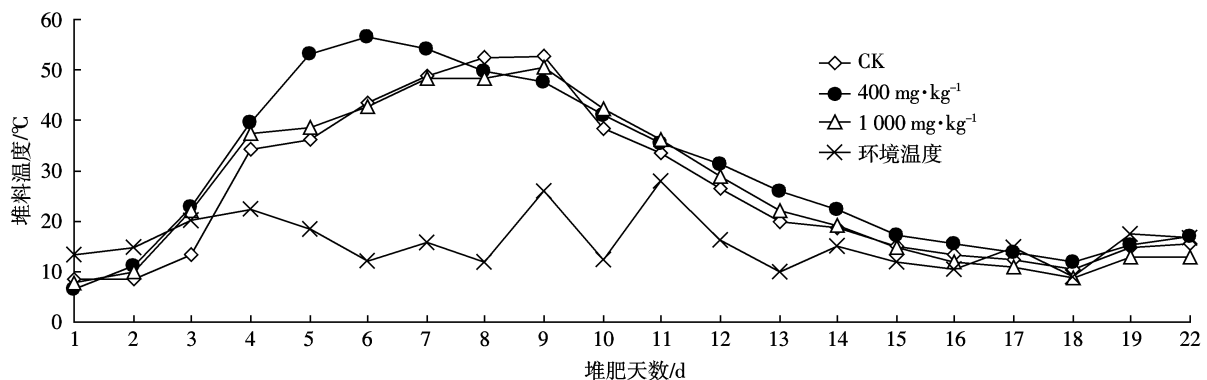


图 2 堆肥进程中的温度变化

Figure 2 Changes of temperature during composting

从图3可以看出,升温期各处理微生物群落的 $AWCD$ 在整个培养过程中变化趋势基本相同,A2处理始终低于CK和A1处理。可见,CK和A1处理在升温期微生物的活性较高,而A2处理在高温期微生物的活性较高。

从图4可以看出,A1处理 $AWCD$ 值在整个培养过程中始终高于A2处理,108 h之前与CK相差不大,108 h之后高于CK。可见A1处理在高温期微生物的

活性最高,密度最大,而A2处理在高温期微生物的活性较低。

从图5可以看出,各处理在降温期没有出现明显的指数增长期,其 $AWCD$ 值的大小顺序与升温期相似。

综上所述表明,在整个堆肥过程中,A2处理微生物活性最低,而CK和A1处理微生物活性基本相当,只是在培养后期A1处理微生物活性才高于CK。这与滕应等^[9]的研究结果相符合:重度污染会大大降低

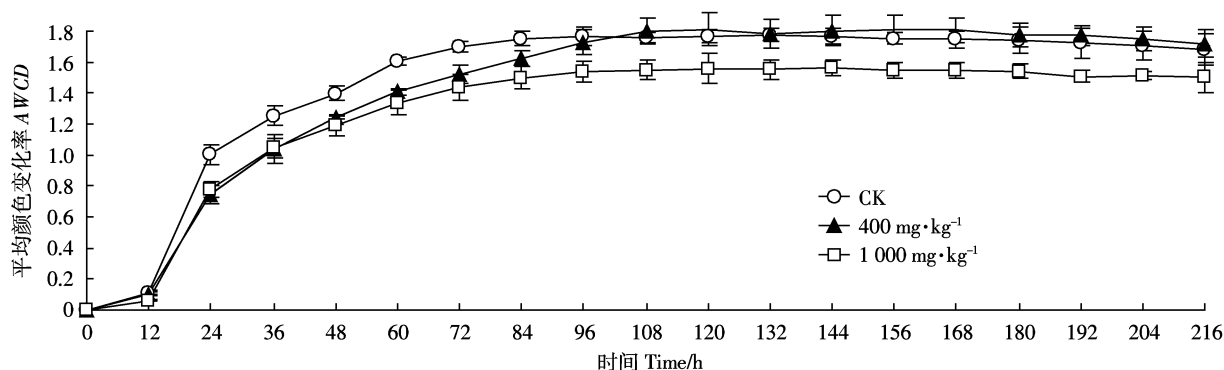


图3 升温期平均颜色变化率

Figure 3 $AWCD$ during raising temperature period

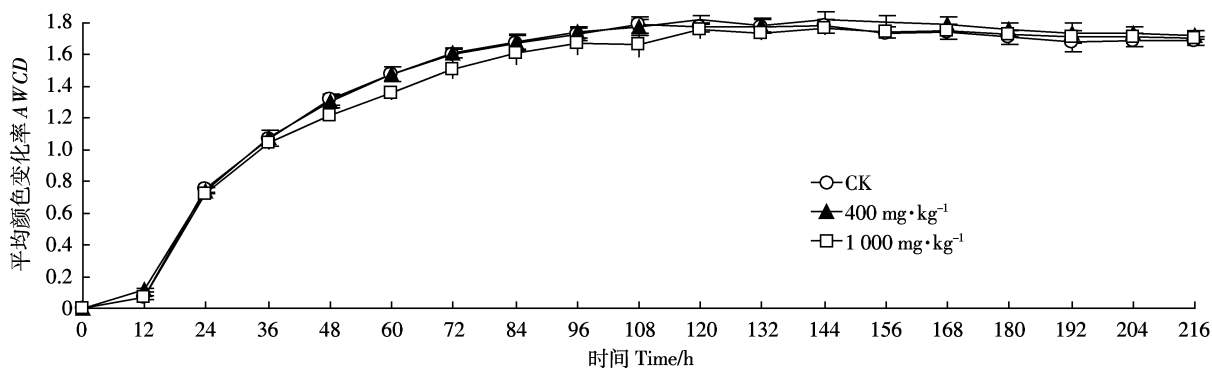


图4 高温期平均颜色变化率

Figure 4 $AWCD$ during high temperature period

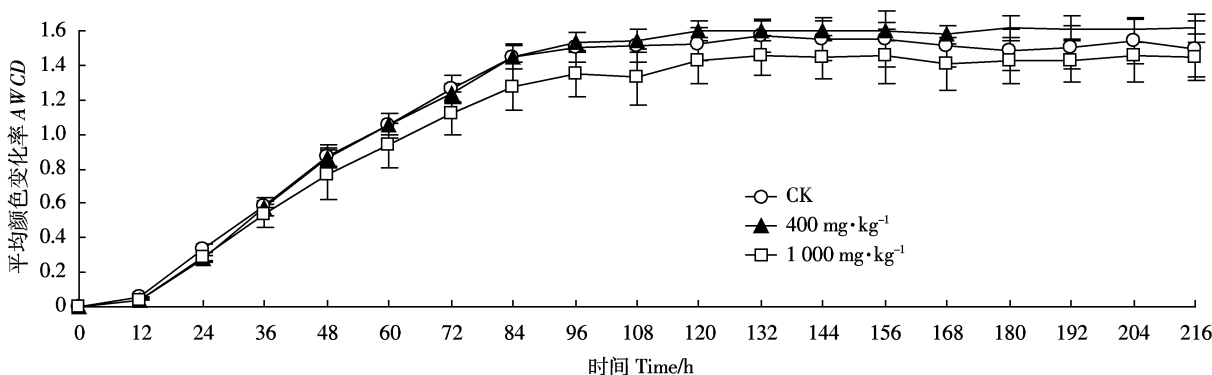


图5 降温期平均颜色变化率

Figure 5 $AWCD$ during dropping temperature period

土壤微生物群落对碳源的代谢能力。

2.2.2 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^[20],一般采用丰富度指数和多样性指数来表征。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代谢多样性分析。

不同处理的微生物群落 Shannon(*H*)指数进行比较(表 3)可见,在整个堆肥过程中,A1 处理微生物群落 Shannon 指数最高,升温期 A2 处理最低,而高温期和降温期 CK 最低。从不同处理微生物群落丰富度指数(*E*)看,各处理间没有太大差异。

结果表明,A1 处理有利于增加堆料微生物群落的丰富度和功能多样性,这和 Yao 等^[21]的研究结论是一致的。但也有研究表明,污染状态下土壤微生物群落多样性比清洁区高,认为是由于土壤微生物对污染环境长期适应的结果。

2.2.3 Zn 在堆肥过程中对微生物利用碳源的影响

反应微生物活性的 *AWCD* 值和表征微生物功能

表 3 不同处理堆料微生物群落功能多样性和均匀度指数

Table 3 Metabolic functional diversity and evenness of microbial community under different treatments

特征时期	指数	CK	400 mg·kg ⁻¹	1 000 mg·kg ⁻¹
升温期	<i>H</i>	3.36±0.02	3.38±0.03	3.27±0.05
	<i>E</i>	0.99±0.00	0.98±0.01	0.99±0.01
高温期	<i>H</i>	3.34±0.04	3.36±0.03	3.35±0.02
	<i>E</i>	0.98±0.00	0.98±0.00	0.98±0.00
降温期	<i>H</i>	3.32±0.03	3.35±0.02	3.33±0.01
	<i>E</i>	0.97±0.01	0.98±0.01	0.97±0.00

注:数值为平均值±标准差(mean±SD),*n*=3。

表 4 不同处理堆料微生物对 6 类碳源的利用

Table 4 Utilization of the six groups of carbon sources under different treatments

特征时期	Zn 处理/mg·kg ⁻¹	氨基酸类	羧酸类	糖类	多胺类	多聚物类	芳香化合物类
升温期	CK	1.67cd	1.59d	1.94b	1.88bc	2.19a	1.50d
	400	1.82ab	1.47ab	2.18a	1.00b	2.04a	1.30ab
	1 000	1.84a	1.21b	1.89a	0.36c	1.96a	1.32b
高温期	CK	1.82ab	1.46bc	2.09a	1.22c	2.18a	1.78ab
	400	1.62c	1.47c	2.20a	1.65c	1.90b	1.59c
	1 000	1.62b	1.39bc	2.07a	1.04c	2.15a	1.46bc
降温期	CK	1.42b	1.21bc	1.97a	0.91c	2.02a	1.18bc
	400	1.49b	1.15c	1.99a	1.04c	2.09a	1.27bc
	1 000	1.29b	0.99bc	1.76a	0.91c	1.99a	1.08bc

注:同行中不同字母表示差异显著(*P*<0.05)。

Note: Different letters in the same row mean significantly different(*P*<0.05).

多样性的 Shannon 指数仅能反映微生物的总体变化情况,未能反映微生物群落代谢的详细信息。采用 96 h 的吸光值分析不同处理的微生物群落结构对 6 大类碳源的利用率结果(表 4)表明:在整个堆肥过程中,降温期的微生物种群在整个培养期对微平板上 6 大类碳源的利用率最低,升温期和高温期差别不大,同时各处理对多胺类化合物的利用率均处于较低的水平,对糖类和多聚物类的利用率处于较高水平。从堆肥不同时期各处理堆料微生物对不同碳源利用程度来看,A1 处理在升温期和高温期对多糖类的利用率较高,而 CK 和 A2 处理对多聚物类利用率较高,降温期各处理均对糖类利用率高,对多胺类利用率低。而 Gremion 等^[22]在研究中发现,重金属污染下的土壤微生物对氨基酸类、胺类以及氨基化合物碳源利用低,表明微生物对重金属的适应可能是以降低某种特殊或稀有的代谢能力为代价的^[23],与本试验研究结果有差异,其有关机理还需要进一步探讨。

因此,Zn 含量为 400 mg·kg⁻¹的堆料中多聚物类和糖类是微生物群落利用的主要碳源,而各处理对多胺类化合物的利用率均比较低。

2.2.4 微生物群落主成分分析(PCA)

重金属的污染不但会对微生物代谢活性有影响,而且会改变微生物群落结构和多样性,使微生物产生代谢变异性,从而对碳源的利用选择发生转移。

由表 5 可见,堆腐升温期、高温期、降温期对 PC1 贡献大的碳源(特征向量大于 0.50)中羧酸类所占比重最大(分别为 40%、33%、47%),其次为糖类(分别为 33%、27%、27%),对 PC2 贡献大的碳源中氨基酸类和羧酸类所占比重较大。可见对 PC1 和 PC2 起分异作用的主要碳源是羧酸类和糖类。

表 5 对 PC1 和 PC2 贡献的特征向量 ≥ 0.50 的碳源数目
Table 5 Numbers of C sources with loadings ≥ 0.50 grouped

碳源	升温期		高温期		降温期	
	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
羧酸类	6	4	5	2	7	2
糖类	5	2	4	2	4	2
氨基酸类	2	1	3	2	1	4
多胺类	0	0	0	2	0	1
多聚物类	2	2	2	2	1	2
芳香化合物类	0	2	1	0	2	1
总和	15	11	15	10	15	12

比较整个堆腐过程中不同时期各处理堆料微生物对 6 大类碳源的利用状况,从主成分分析(见图 6~图 8)可见,不同浓度重金属处理在主成分坐标体系中差异十分明显。升温期 A1 处理位于第一象限,CK 位于第三象限,而 A2 处理在二、三、四象限均有分布,方差分析表明,PC2 典型变量值差异显著 ($F=5.39, P<0.05$), 表现为 A1 处理与 A2 处理差异达显著水平。高温期 A1 处理位于 PC2 正端,CK 位于 PC2 负端,PC2 典型变量值差异显著 ($F=10.15, P<0.05$),表现为

CK 处理与 A1、A2 处理差异均显著。降温期 A1 处理位于 PC2 正端,A2 处理位于 PC2 负端,PC2 典型变量值差异不显著。可见,堆腐不同时期各处理间均有一定的差异,A1 处理始终位于 PC2 正端,而 CK 在升温期和高温期位于 PC2 负端,A2 处理在降温期位于 PC2 负端。

综上所述,A WCD 和 Shannon 指数的变化可反映微生物的活性和功能多样性的变化^[24]。Kelly and Tate^[25]发现,Zn 会影响土壤微生物的群落结构和功能多样性,提高土壤重金属的含量,可导致土壤微生物种群结构的变化,这与本文堆腐微生物群落的 A WCD 变化相符。Knight 等^[26]报道,重金属浓度和 pH 的下降都能显著地影响土壤微生物群落的多样性,本文的试验结果也表明了堆料中微生物对碳源利用模式的改变与重金属浓度有关。从主成分分析(PCA)可见,不同浓度重金属 Zn 影响下各处理堆料中微生物在整个堆腐过程中对碳源的选择性利用存在差异,反映了不同浓度重金属 Zn 影响下微生物利用碳源的种类发生了变化,暗示了高浓度的重金属破坏了堆料中原有的生态系统,使堆料中微生物的群落正常功能丧失,进

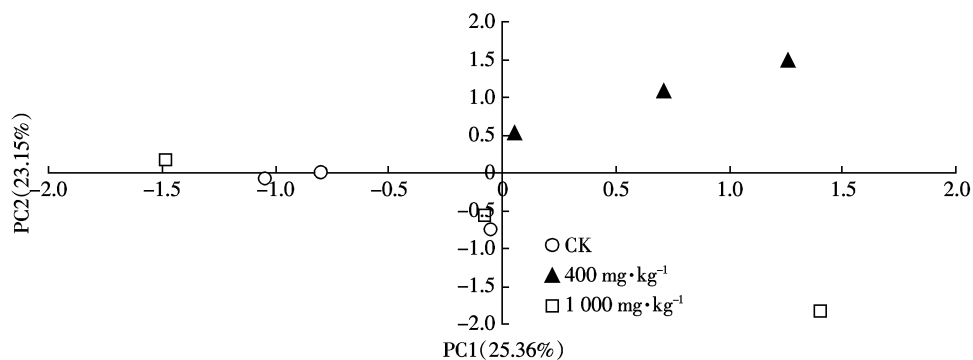


图 6 升温期 96 h 主成分分析因子载荷图

Figure 6 Loadings of principal component analysis after 96 h culturing during raising temperature period

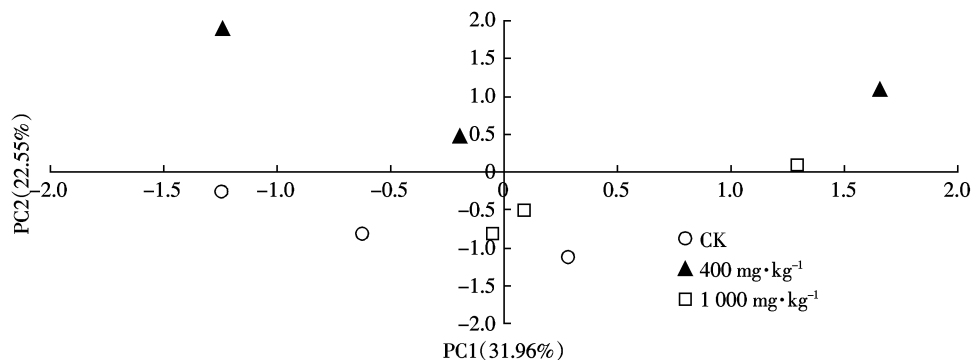


图 7 高温期 96 h 主成分分析因子载荷图

Figure 7 Loadings of principal component analysis after 96 h culturing during high temperature period

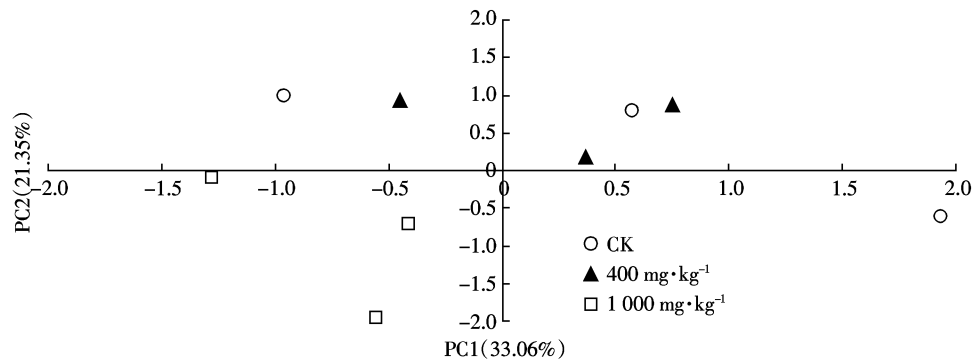


图 8 降温期 96 h 主成分分析因子载荷图

Figure 8 Loadings of principal component analysis after 96 h culturing during dropping temperature period

而导致堆腐微生物的群落结构和功能多样性发生相应变化。

3 结论

(1)不同浓度的重金属 Zn 在堆肥过程中对堆料理化性质的影响不同。Zn 含量为 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的处理使得堆料升温较快,高温持续时间长。

(2)不同浓度重金属 Zn 处理的堆料在整个堆腐过程中,微生物群落 A WCD 值以及多样性指数分析均表明,A1 处理微生物活性相对较高,有利于增加堆料微生物群落的丰富度和功能多样性。

(3)微生物群落结构对 6 大类碳源的利用率表明,较低浓度重金属 Zn 处理的堆料中微生物对多聚物类和糖类的利用效能最为显著,而多胺类化合物的利用率均比较低。微生物群落主成分分析(PCA)指标表明,在不同浓度重金属 Zn 影响下,堆腐不同时期各处理间均有一定的差异。

参考文献:

- [1] 康湛莹,李瑞增,车承斌. 重金属离子杀菌作用的机理[J]. 哈尔滨科技大学学报, 1995, 19(3): 103-105.
KANG Zhan-ying, LI Rui-zeng, CHE Cheng-bin. The mode of the fungicidal action of heavy metal ions[J]. *Journal of Harbin University of Science and Technology*, 1995, 19(3): 103-105.
- [2] 任顺荣,邵玉琴,王正祥. 利用畜禽废弃物生产的商品有机肥重金属含量分析[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊 1): 216-218.
Ren S R, Shao Y C, Wang Z X. Analyze on heavy metals content of merchandise compost produced by animal wastes[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2005, 24(Suppl 1): 216-218.
- [3] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(2): 213-221.
- [4] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [5] Atkinson C F, Jones D D, Gauthier J J. Microbial activities during composting of pulp and paper-mill primary solids[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 1997, 13: 519-525.
- [6] Insam H, Amor K, Renner M, et al. Changes in functional abilities of the microbial community during composting of manure[J]. *Microbial Ecology (Historical Archive)*, 1996, 31: 77-87.
- [7] Fang M, Wong J W C. Changes in thermophilic bacteria population and diversity during composting of coal fly ash and sewage sludge[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2000, 124: 333-343.
- [8] 张福锁,龚元石,李晓林. 土壤与植物营养研究新动态(第三卷)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 319-343.
ZHANG Fu-suo, GONG Yuan-shi, LI Xiao-lin. The new research dynamic of the soil and plant nutrition[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1995: 319-343.
- [9] 倪永珍,李维炯. EM 技术应用研究[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1998: 23-32.
NI Yong-zhen, LI Wei-jiong. EM technology application research[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1998: 23-32.
- [10] Haack S K, Garchow H, Klug M J, et al. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1995, 61(8): 1458-1468.
- [11] Selmants P C, Hart S C, Boyle S I, et al. Red alder (*Alnus rubra*) alters community-level soil microbial function in conifer forests of the Pacific Northwest, USA[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(10): 1860-1868.
- [12] Grove J A, Kautola H, Javadpour S, et al. Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2004, 18: 111-114.
- [13] Fisk M C, Ruether K F, Yavitt J B. Microbial activity and functional composition among northern peatland ecosystems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(4): 591-602.
- [14] 陈同斌,黄启飞. 城市污泥堆肥温度动态变化过程及层次效应[J]. 生态学报, 2000, 22(5): 736-741.

- CHEN Tong-bin, HUANG Qi-fei. Temperature dynamic during the sewage sludge composting process[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 22(5):736-741.
- [15] 郑丹, 阎静, 陶光灿, 等. 添加无机肥料对高温堆肥化及磷素有效性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(6):1631-1635.
- ZHENG Dan, YAN Jing, TAO Guang-can, et al. Effects of inorganic fertilizer amendments on dairy waste composting and phosphorus availability[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2006, 25(6):1631-1635.
- [16] 赵由才, 柴晓利. 生活垃圾资源化原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002:142-144.
- ZHAO You-cai, CHAI Xiao-li. Principles and technology for utilizing domestic waste as resource[M]. Beijing: Chemistry Industry Press, 2002:142-144.
- [17] 毛知耕. 肥料学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997:313-317.
- MAO Zhi-geng. Fertilizer science[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997:313-317.
- [18] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities[J]. *Environmental Management*, 1997, 21(2):233-238.
- [19] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 等. 复垦红壤中牧草根际微生物群落功能多样性[J]. 中国环境科学, 2003, 23(3):295-299.
- TENG Ying, HUANG Chang-yong, LONG Jian, et al. Functional diversity of microbial community in herbage rhizosphere of reclaimed red soils[J]. *China Environmental Science*, 2003, 23(3):295-299.
- [20] Ma Y, Chen Z, Zeng Z. Effects of enrofloxacin on functional diversity of soil microbial communities[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(8):3400-3406.
- [21] Yao H, Xu J, Huang C. Substrate utilization pattern, biomass and activity of microbial communities in a sequence of heavy metal-polluted paddy soils[J]. *Geoderma*, 2003, 115:139-148.
- [22] Gremion F, Chatzinotas A, Kaufmann K, et al. Impacts of heavy metal contamination and phytoremediation on a microbial community during a twelve-month microcosm experiment[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2004, 48:273-283.
- [23] Wenderoth D F, Reber H H. Correlation between structural diversity and catabolic versatility of metal-affected prototrophic bacteria in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31:345-352.
- [24] Liu A M, Huang W Y. Microbial activities and functional diversity of community in soils polluted with copper tailing after cultivate[J]. *Ecology and Environment*, 2005, 14(6):876-879.
- [25] Kelly J J, Tate R L. Effects of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities in the vicinity of a zinc smelter[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27(3):609-617.
- [26] Knight B P, McGrath S P, Chaudri A M. Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soils amended with cadmium, copper, or zinc[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63:39-43.