

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第11期

Vol.38 No.11

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

天津市非道路移动源污染物排放清单开发	张意, Andre Michel, 李东, 张欣, 吴琳, 张衍杰, 马超, 邹超, 毛洪钧 (4447)
基于移动监测和土地利用回归模型的上海市近地面黑碳浓度空间模拟	彭霞, 余倩楠, 龙凌波, 刘敏, 徐茜, 魏宁, 周陶冶 (4454)
鄂东典型工业城市大气 PM ₁₀ 中元素浓度特征和来源分析	占长林, 张家泉, 郑敬茹, 姚瑞珍, 刘红霞, 肖文胜, 刘先利, 曹军骥 (4463)
常州夏秋季 PM _{2.5} 中碳质气溶胶特征及来源	叶招莲, 刘佳澍, 李清, 马帅帅, 许澎 (4469)
徐州市冬季大气细颗粒物水溶性无机离子污染特征及来源解析	范美益, 曹芳, 张园园, 鲍孟盈, 刘晓妍, 张雯淇, 高嵩, 章炎麟 (4478)
南宁市一次污染过程大气颗粒物理化特性及来源	刘慧琳, 陈志明, 李宏姣, 蒋靖坤, 张强, 黄炯丽, 毛敬英, 梁桂云, 杨俊超, 张达标, 莫招育 (4486)
西安市秋冬季不同空气质量下可培养微生物气溶胶浓度和粒径分布	李婉欣, 路瑞, 谢铮胜, 王金龙, 范春兰, 刘鹏霞, 李彦鹏 (4494)
黄渤海海域秋季营养盐及有色溶解有机物分布特征	唐永, 孙语嫣, 石晓勇, 韩秀荣, 苏荣国 (4501)
华东沿海滩涂区表层沉积物重金属含量特征及风险评价	张明, 鲍征宇, 陈国光, 雍太健, 朱意萍, 梁晓红 (4513)
基于地球化学特性的海州湾海洋牧场沉积物重金属研究	李大鹏, 张硕, 张中发, 罗娜, 魏青青, 张瑞, 黄宏 (4525)
尼洋河流域水化学特征及其控制因素	张涛, 蔡五田, 李颖智, 张智印, 耿婷婷, 边超, 赵森, 蔡月梅 (4537)
南亚热带地区水库夏季铁、锰垂直分布特征	杨思远, 赵剑, 余华章, 彭亮, 肖利娟 (4546)
辽河流域地表水中典型抗生素污染特征及生态风险评估	张晓娇, 柏杨巍, 张远, 马淑芹, 郭昌胜, 张莉 (4553)
东太湖渔业养殖对沉积物营养盐的影响	何肖微, 储瑜, 曾巾, 赵大勇, 陆建明, 曹萍, 吴庆龙 (4562)
浑太河不同水生态区营养盐对底栖硅藻的影响及阈值	张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 臧小苗, 张晓娇 (4570)
水环境条件对三峡库区消落带狗牙根根磷养分淹水浸泡释放的影响	肖丽微, 朱波 (4580)
野鸭湖湿地芦苇根际微生物多样性与磷素形态关系	滕泽栋, 李敏, 朱静, 宋明阳 (4589)
人为扰动背景下城市边缘溪流底质硝化-反硝化潜力分析	李如忠, 郑侠, 高苏蒂, 叶舟 (4598)
不同扰动下外源磷在形态磷间的分布规律	蔡顺智, 李大鹏, 唐鑫煜, 李浩冉, 朱伟, 黄勇 (4607)
伊乐藻-高效脱氮微生物协同作用对污染水体氮素脱除机制的影响	王浩, 李正魁, 张一品, 丁帮璟 (4617)
零价铁活化过硫酸钠去除废水中的砷(V)	周孜迈, 邓文娜, 杨艺琳, 孙艳秋, 王悦, 柳听义, 王中良 (4623)
nZVI/AC 复合材料对水中锑的去除	蒋婷, 鲍玥, 李威, 方荣业, 史惠祥 (4632)
流态对生物添加强化硝化效果的影响	于莉芳, 杜倩倩, 张茹, 杨秀玲, 李初, 渭思思, 冯云堂 (4641)
温度对 SBR 生物脱氮效能及胞外聚合物的影响	孙洪伟, 陈翠忠, 吴长峰, 赵华南, 于雪, 方晓航 (4648)
温度对间歇曝气 SBR 短程硝化及硝化活性的影响	刘宏, 彭永臻, 卢炯元, 李慧, 南彦斌, 王瑾, 陈永志 (4656)
不同诱导模式下 CAST 工艺的亚硝酸盐型反硝化除磷能力	马娟, 王谨, 俞小军, 张伟, 魏雪芬, 陈永志, 田文清 (4664)
污水处理厂 CANON 工艺小试	李冬, 赵世勋, 王俊安, 朱金凤, 关宏伟, 张杰 (4673)
SBR 加载不同粒径磁性活性炭对其污泥颗粒化进程的影响机制	信欣, 管蕾, 郭俊元, 刘洁, 冯梅, 余婷婷 (4679)
常温下厌氧氨氧化污泥的储存及活性恢复	黄佳路, 王小龙, 高大文 (4687)
同步脱氮除磷好氧颗粒污泥培养过程微生物群落变化	高景峰, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲, 张丽芳, 张树军, 高永青, 张帅 (4696)
硫酸盐和 Fe(II) EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA 厌氧还原过程特性及微生物群落分析	张玉, 万方, 周集体 (4706)
SBR 系统外加磁场对微生物群落多样性和处理效果的影响	耿淑英, 付伟章, 王静, 郑书联 (4715)
安徽某铁矿排土场废矿石中产酸微生物群落	杜泽瑞, 郝春博, 裴理鑫, 卫朋飞, 张鑫, 鲁艳春 (4725)
典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析	杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 武福平, 赵炜, 张洪伟, 张翔 (4733)
表层沉积物中 6:2 氟调醇生物降解对细菌群落结构的影响	王丹, 侯珍, 张琪, 周莹, 卢晓霞 (4747)
外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响	刘艳秋, 赵嫣然, 刘梦娇, 樊灏, 黄艺 (4756)
1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性	牟东阳, 靳鹏飞, 彭永臻, 李夕耀, 张琼, 何建中 (4763)
重庆缙云山 4 种典型植被覆盖下汞的释放通量及影响因素	杨光, 孙涛, 安思危, 马明 (4774)
模拟氮沉降对闽江口淡水感潮沼泽湿地 CO ₂ 、CH ₄ 排放通量的短期影响	李冬冬, 仝川, 谭立山, 陈坤龙, 孙东耀, 黄佳芳 (4782)
地膜覆盖对稻-油轮作农田 CH ₄ 和 N ₂ O 排放的影响	石将来, 郝庆菊, 冯迪, 张凯莉, 石孝均, 江长胜 (4790)
西安市公园土壤多环芳烃污染特征、来源及风险评价	周燕, 卢新卫 (4800)
不同沙生灌木下土壤颗粒及重金属空间分布特征	代豫杰, 郭建英, 董智, 李锦荣, 李红丽 (4809)
不同水分梯度下 UV-B 辐射对 2 个稻田土壤碳氮转化的影响	蒋梦蝶, 王秋敏, 徐鹏, 周维, 郭磊, 胡荣桂 (4819)
喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响因子	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧, 胡亚军 (4828)
生物炭和草酸活化磷矿粉对镉镍复合污染土壤的应用效果	段然, 胡红青, 付庆灵, 寇长林 (4836)
反复冻融与高温老化对神污染土壤固化稳定化效果的影响	杨洁, 钱赵秋, 王旌 (4844)
皂角苷和柠檬酸联合对污泥中 Cu、Pb 和 Zn 的去除及其稳定性特征	叶涛, 黄丽, 张克强, 张斌, 常红, 刘智杰, 杜连柱 (4850)
针铁矿与胡敏酸的交互作用及其复合物的稳定性	王锐, 朱朝菊, 向文军, 方敦, 杨小洪, 吴少尉, 魏世勇 (4860)
塑胶跑道中有机磷酸酯的含量及健康风险	印红玲, 刘琴, 廖林群, 王震, 罗怡, 邓旭, 丁凌刚, 唐铭 (4868)
农业废物堆肥中理化参数对 GH6 家族基因影响	陈耀宁, 苟宇, 黎媛萍, 伍艳馨, 陈艳容, 李辉, 刘耀, 汪元南, 张道利, 朱福造, 曾光明 (4874)
F/M 及 HRT 对果蔬垃圾厌氧发酵产氢的影响	李标, 孔晓英, 李连华, 袁振宏, 孙永明, 吕鹏梅 (4882)
环境模型中敏感性分析方法评述	陈卫平, 涂宏志, 彭驰, 侯鹰 (4889)
《环境科学》征稿简则 (4462) 《环境科学》征订启事 (4672) 信息 (4647, 4705, 4789)	

农业废物堆肥化中理化参数对 GH6 家族基因影响

陈耀宁^{1,2}, 苟宇^{1,2}, 黎媛萍³, 伍艳馨^{1,2}, 陈艳容^{1,2}, 李辉⁴, 刘耀^{1,2}, 汪元南^{1,2}, 张道利^{1,2}, 朱福造^{1,2}, 曾光明^{1,2}

(1. 湖南大学环境科学与工程学院, 长沙 410082; 2. 环境生物与控制教育部重点实验室(湖南大学), 长沙 410082; 3. 湖南城市学院市政与测绘工程学院, 益阳 413000; 4. 湖南省林业科学院生物环境工程研究所, 长沙 410004)

摘要: 采用 PCR-DGGE 技术, 研究农业废物稻草堆肥化过程中参与纤维素降解的糖苷水解酶 GH6 家族基因的变化, 并使用冗余分析(redundancy analysis, RDA)和蒙特卡罗置换检验(Monte Carlo permutation test)研究了生物信息矩阵与环境因子矩阵间的相关性. 结果表明, 8 个理化参数对 GH6 家族基因变化影响的相对大小为: pH > 堆体温度 > TN (total nitrogen) > TOM (total organic matters) > C/N (TOC/TN) > 含水率 > 环境温度 > WSC (water soluble carbon), 8 个理化参数共解释了 83.1% 的 GH6 家族基因变化, 对 GH6 家族基因变化有重要影响, 其中 pH ($P=0.002$)、堆体温度 ($P=0.004$) 和 TN ($P=0.004$) 是影响 GH6 家族基因变化的显著因子, 三者分别解释了 24.92%、15.57% 和 15.04% 的 GH6 家族基因变化. 含 GH6 家族基因的优势菌种在堆体不同时期有所不同. GH6 家族基因的多样性和丰度随堆肥化进程整体呈现出波动趋势. 基于冗余分析的 t -value 分析表明 3 个显著因子对 GH6 家族基因的动态变化具有不同的正负相关性.

关键词: 堆肥化; GH6 家族基因; PCR-DGGE; 冗余分析; 蒙特卡罗置换检验

中图分类号: X172; X712 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)11-4874-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201704008

Effects on Physico-chemical Parameters of Glycoside Hydrolase Family 6 Genes During Composting of Agricultural Waste

CHEN Yao-ning^{1,2}, GOU Yu^{1,2}, LI Yuan-ping³, WU Yan-xin^{1,2}, CHEN Yan-rong^{1,2}, LI Hui⁴, LIU Yao^{1,2}, WANG Yuan-nan^{1,2}, ZHANG Dao-li^{1,2}, ZHU Fu-zao^{1,2}, ZENG Guang-ming^{1,2}

(1. College of Environment Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control (Hunan University), Changsha 410082, China; 3. College of Municipal and Mapping Engineering, Hunan City University, Yiyang 413000, China; 4. Institute of Biological and Environmental Engineering, Hunan Academy of Forestry, Changsha 410004, China)

Abstract: Polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) was used to study the changes of glycoside hydrolase family 6 (GH6 family) genes during the composting of agricultural waste. In addition, a redundancy analysis (RDA) and Monte Carlo permutation test were applied to determine the relationship between the changes to the GH6 family genes and physico-chemical parameters. According to the relative magnitudes of the influence caused by these different parameters on the changes to GH6 family genes, the eight-ranked physico-chemical parameters were pH > pile temperature > total nitrogen (TN) > total organic matter (TOM) > C/N ratio > moisture content > ambient temperature > water soluble carbon (WSC). The eight physico-chemical parameters, which explained 83.1% of the variation of GH6 family genes, confirmed that these parameters had important effects on the GH6 family genes changes. The pH ($P=0.002$), pile temperature ($P=0.004$), and TN ($P=0.004$) had the most significant impacts on these changes. These three significant factors explained 24.92%, 15.57%, and 15.04% of the variation of GH6 family genes, respectively. There were different dominant species which contain GH6 family genes in different stages of composting. The diversity and abundance of GH6 family genes demonstrated these fluctuation trends. The t -value biplots based on the RDA showed that these three significant factors had either positive or negative correlations with the dynamic changes of GH6 family genes and the microbial species contained within GH6 family genes can be generally be divided into five types. The microbial community changes are reflected by the No. 4 to No. 10 bands and these had a significant positive correlation with pile temperature and a significant negative correlation with pH and TN. The microbial community changes reflected by the No. 20 to No. 23 bands had a significant positive correlation with pH and TN.

Key words: composting; GH6 family genes; PCR-DGGE; RDA; Monte Carlo permutation test

收稿日期: 2017-04-01; 修订日期: 2017-05-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(51378190, 51521006, 51578222, 51579094); 湖南省自然科学基金项目(13JJB002); 湖南省科技厅重点研发计划项目(2016SK2045); 湖南省教育厅创新平台开放基金项目(17K019)

作者简介: 陈耀宁(1978~), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为固体废物资源化与环境微生物学, E-mail: cyn@hnu.edu.cn

纤维素作为自然界中最丰富的可再生碳源,年产量超过 1500 亿 t,广泛存在于农林等有机固体废物中,如稻草、畜禽粪便、废弃木屑等,尤其以农业废物为主^[1]. 仅我国每年农作物秸秆的产量就高达 7 亿 t 左右,其中又以稻草产量最大. 虽然每年产生大量的生物质资源,但大约仅有 11% 左右用于燃料、造纸、饲料及建筑等方面,还有相当一部分被废置或直接焚烧,造成了大量的资源浪费,并且衍生出各种环境污染问题,因此,研究纤维素的降解与利用具有重要的意义^[2,3].

堆肥化是一种自然加热、好氧、无二次污染的生物降解技术,适于将农业废物降解转化成稳定的可用资源. 但由于纤维素分子之间通过大量氢键形成平行牢固的微晶束,并与化学结构复杂多变的木质素紧密结合在一起,阻碍了堆肥化过程中微生物对木质纤维素的利用,使得纤维素降解成为了农业废物被微生物降解利用的前提与关键^[4]. 糖苷水解酶(glycoside hydrolases, GH)可以作用于 β -1,4 糖苷键,从而将木质纤维素水解成微生物更容易利用的物质,其中的 GH6 家族包含内切纤维素酶和外切纤维素酶,广泛分布于真菌和细菌中,是纤维素早期降解过程中重要的酶之一^[5-7]. 因此,含有 GH6 家族基因的微生物是堆肥化过程中参与纤维素前期降解利用的重要微生物,对堆肥化的顺利实施利用具有重要意义,然而关于堆肥化过程中 GH6 家族基因多样性及丰度变化的研究却鲜见报道.

堆肥化是一个复杂的动力学与生物化学工程,不同理化参数对堆肥化进程及微生物群落组成变化具有不同的影响. 赵晨阳等^[8]研究显示堆肥化过程中通风时间和曝气量是影响氮素损失的重要因素. Chen 等^[9]发现 pH 和堆体温度是影响堆肥体系中参与反硝化和硝化过程的 *nirK* 和 *nirS* 基因变化的主要因素. Sundberg 等^[10]实验结果表明不同的初 pH 对堆肥化过程中微生物群落的影响有显著差别. Chen 等^[11]实验表明堆体温度对真菌群落的影响最为显著. 赵晨阳等^[12]通过猪粪堆肥化实验结果表明,翻堆频率对堆肥化过程中氨气、 N_2O 等温室气体的排放具有显著影响. 这些研究大多局限于单一的或几个理化参数,无法提供较为系统全面的参考,系统研究堆肥化过程中理化参数对纤维素降解酶 GH6 家族基因的影响,将有助于对农业废物堆肥化的深入理解和精细控制.

因此,本文以农业废物稻草为主要原料进行堆

肥化,采用 PCR-DGGE 技术,冗余分析和蒙特卡罗置换检验方法,以及基于冗余分析的 *t*-value 分析,研究堆肥化过程中理化参数对糖苷水解酶 GH6 家族基因变化的影响,按影响程度从大到小排序,筛选出显著影响因子,以期对堆肥化过程中的纤维素生物降解及理化参数优化和控制的研究提供更为全面的参考.

1 材料与方法

1.1 实验设置与取样

堆肥化过程采用的原料包括稻草、易腐烂蔬菜、麸皮和土壤,除土壤外,原料均采集于长沙郊区. 稻草和菜叶经风干后切成 1 cm ~ 2 cm 的片段. 土壤采集于岳麓山林间表层 10 cm ~ 15 cm 的腐殖质层土壤,在室内自然阴干后过 40 目筛,用于增加堆体的微生物种类和部分微量营养元素. 易腐烂蔬菜收集自本地市场,为微生物的生长代谢提供易降解的有机质. 稻草、土壤、蔬菜和麸皮经过处理后,按照 11:8:3:2^[13] 的质量比混合均匀,将原料松散地装入实验室具有良好保温性能的装置中,并通过添加灭菌去离子水,调节原料的初始有机质质量分数约为 60%,C/N 约为 30,含水率约为 60%,堆体质量湿重(除去装置质量)约为 20 kg. 实验周期为 50 d,在第 0、2、4、8、10、12、15、20、30、50 d 取样. 取样时,从堆体上、中、下这 3 个部位各取一份样品,将 3 份样品混合均匀后分为两部分,一份用于理化参数的测定,另一份保存于 -20℃ 用于 PCR-DGGE 实验分析. 为维持堆体好氧环境,在前 12 d 每天进行翻堆,之后每 3 d 翻堆一次. 每次取样后,采用恒重法测定堆体含水率,通过添加灭菌去离子水调节堆体含水率,维持在 50% ~ 60% 左右.

1.2 理化参数测定

本实验共测定 8 个理化参数:堆体温度、环境温度、pH、WSC、含水率、TOM、TN、C/N. 各参数的测定方法参照 Chen 等^[11]实验中描述的方法. 每次测定均设置 3 次平行实验,取平均值,最大实验误差限 <5%.

1.3 DNA 提取及 PCR-DGGE 实验

样品 DNA 提取采用 Power Soil® DNA Isolation Kit (Mo Bio, USA),提取步骤按照试剂盒提供的说明书进行. 粗提 DNA 采用纯化试剂盒(BioTeke, Beijing)进行纯化. 采用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测粗提和纯化后的 DNA 提取效果,并采用核酸蛋白测定仪(Eppendorf, Germany)检测纯化产物浓度. 结

果显示,纯化后 DNA 的 D_{260}/D_{280} 在 1.6 ~ 1.8 之间,质量和浓度较为理想. 纯化后的 DNA 保存于 -20°C ,用于后续实验分析.

PCR 采用引物 cell2F 和 cell2R^[5] 在 MyCycler (Bio-Rad, USA) 上进行目的片段扩增,该引物可以扩增大部分微生物的 GH6 家族基因,包括真菌和细菌的,引物详细信息见表 1. 反应体系为 1 μL DNA

模板, 25 μL 2 $\times$ Power Taq PCR Master Mix (Tiangen, Beijing), cell2F 和 cell2R 引物各 1 μL (20 μmol), 无菌 Mili-Q 水补足 50 μL . 扩增条件为: 95°C 预变性 3 min, 95°C 变性 45 s, 64°C 退火 45 s, 72°C 延伸 30 s, 35 个循环, 72°C 5 min. PCR 结束后,使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测目的片段扩增效果. 每个样品设置两组平行实验.

表 1 GH6 家族基因 PCR 引物 cell2F 和 cell2R

Table 1 Characteristics of PCR primers, cell2F and cell2R, used in GH6 family genes

引物名称	引物序列(5'-3') ¹⁾	目标位置	目标产物长度/bp
cell2F	ACCTGCCCGRCCGYGACT	401 ~ 418	150 ~ 250
cell2R	GAGSGARTCSGGCTCRAT	553 ~ 570	150 ~ 250

1) 简并碱基, R = A 或 G; Y = C 或 T; S = G 或 C

DGGE 采用 Dcode™ 基因突变检测系统 (Bio-Rad, USA) 进行电泳. 取 40 μL PCR 产物,采用 1 mm 质量与体积比为 8% 的 PACE (聚丙烯酰胺胶), 变性梯度 35% ~ 70% (100% 变性剂为 7 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的尿素和 40% 的去离子甲酰胺的混合物). 电泳条件为: $1\times$ TAE 缓冲液, 120 V 电压, 60°C 恒温、恒压 12 h. 电泳结束后,使用 SYBR Green I (Molecular Probes, Carlsbad, CA, USA) 核酸染料进行染色. 采用 Doc2000 凝胶成像系统 (Bio-Rad, USA) 进行拍照,使用 Quantity One 2.0 软件 (version 4.5, Bio-Rad, USA) 进行图像处理分析.

1.4 数据处理

采用 SPSS 11.5 软件对所有理化参数进行显著性差异分析 (one-way analysis of variance, ANOVA) 以检验不同理化因子在不同时间是否具有显著性差异,并采用 Z-score 标准化去除理化参数之间的量纲差异,从而构建环境因子矩阵. DGGE 图谱使用 Quantity One 软件处理和分析,消除 PACE 胶和泳道背景干扰后,以 GH6 家族基因在不同条带中亮度峰值的相对百分比构建生物信息矩阵. 利用处理得到的数据计算堆肥化过程中 GH6 家族基因的丰富度 (S)、均匀度 (E_h) 和香农-威纳 (H') 指数^[14]. 使用 Canoco 4.5 软件对获得的生物信息矩阵进行除趋势对应分析 (detrended correspondence analysis, DCA), 以确定选择线性模型 (linear model) 或单峰模型 (unimodal model) 进行后续分析. 结果表明,第一排序轴长度为 2.885,因此,选用基于线性模型的冗余分析进行后续分析^[15]. 采用蒙特卡罗置换检验^[16] 计算每个理化参数的显著性及其对 GH6 家族基因变化解释率百分比. 利用 t-value 分析不同 GH6 家族基因所代表的物种与筛选得到的显著因子之间的

相关关系^[17]. 理化参数变化图采用 OriginPro 8 软件绘制,冗余分析和 t-value 分析结果采用 Canodraw 4.5 软件作图.

2 结果与讨论

2.1 理化参数变化

堆肥化过程中理化参数的变化情况如图 1 所示. 在堆肥化过程前 4 d,堆体 pH 迅速上升,在第 4 d 达到最大值 8.96,这是由于堆体中微生物大量生长代谢,有机氮通过氨化作用和矿化作用产生大量的水溶性氨,使得堆体 pH 快速上升. 随后由于水溶性氨的挥发^[18] 和微生物活动释放出 H^+ ,导致 pH 下降并维持在 8.20 左右. 微生物的新陈代谢使得大量的有机碳被分解利用,导致 C/N 由最初的 30.19 逐渐下降到 17.72,通常认为当堆体的 C/N 降低到 15 ~ 20^[19] 时,可视为堆肥产品达到腐熟[图 1(a)]. 堆肥化过程中,温度是影响微生物活性的重要因素之一^[20,21]. 本次实验中堆体温度呈现出明显的 4 个时期,包括升温期 (0 ~ 1 d)、高温期 (2 ~ 7 d,温度高于 50°C)、降温期 (8 ~ 30 d) 和腐熟期 (31 ~ 50 d). 满足了堆肥的卫生学指标和腐熟条件[图 1(b)]. 堆体含水率维持在 50% ~ 60% 左右. WSC 在最初 4 d 内迅速下降,并在 4 ~ 8 d 内上升,然后逐渐下降至 $1.48\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [图 1(c)]. 微生物的大量生长代谢,迅速分解消耗体系内的 TOM,使得堆体 TOM 含量迅速下降,从初始的 $447.75\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 逐渐下降到 $308.60\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 并趋于稳定[图 1(d)]. 在 TOM 含量迅速下降的背景下,微生物对 N 营养物质的消耗速度小于堆体中原料质量下降速度,因而堆体中 TN 含量在前 12 d 呈现出“相对浓缩效应”^[22],堆体 TN 含量呈现出明显上升趋势,到后期上升趋

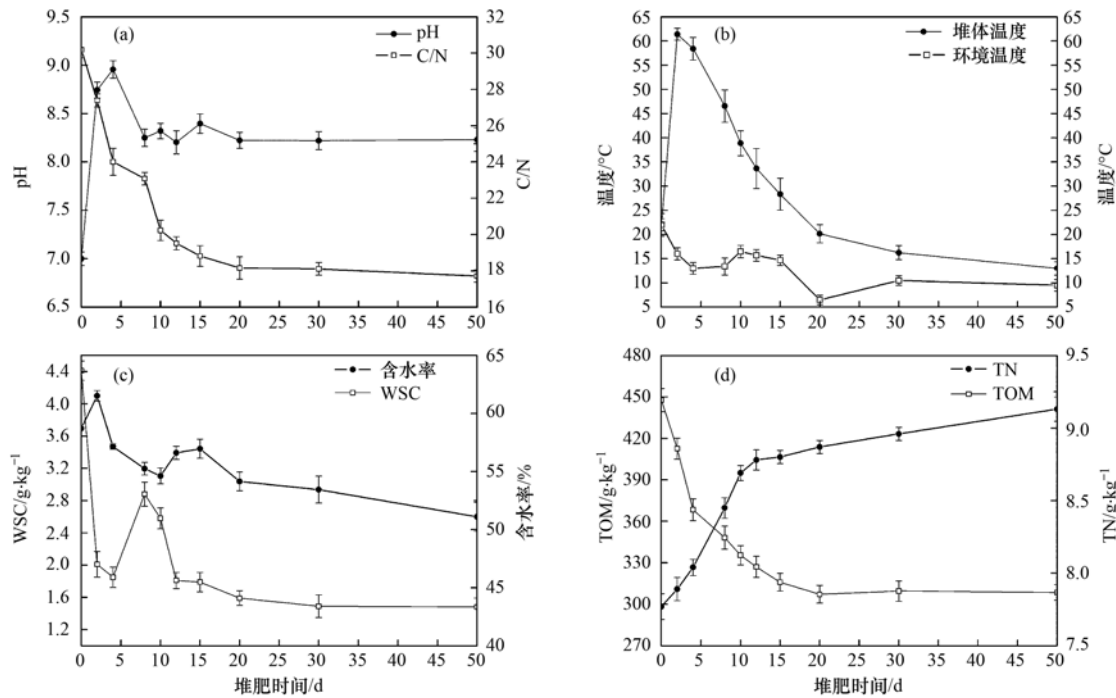


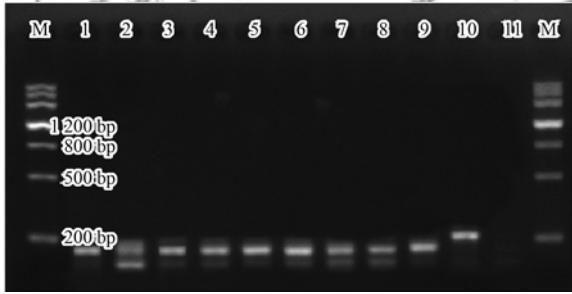
图 1 堆肥化过程中理化参数变化

Fig. 1 Changes of physico-chemical parameters during composting process

势趋于平缓,这与文献[23~25]的研究结果相似。

2.2 GH6 家族基因 PCR 和 DGGE 结果

GH6 家族基因 PCR 结果如图 2 所示,各样品扩增产物条带明亮清晰、目标位置正确,扩增产物大小在 150~250 bp 之间,为目标片段长度,无明显非特性扩增。扩增产物质量可满足后续 DGGE 实验分析。



编号 1~10 分别对应第 0、2、4、8、10、12、15、20、30、50 d 样品,11 为空白对照,M 为 Marker III

图 2 GH6 家族基因 PCR 结果

Fig. 2 PCR results for GH6 family genes

DGGE 图谱[图 3(a)]可以直观地反映含有 GH6 家族基因的微生物种群动态变化。DGGE 图谱中同一水平位置的条带代表了具有相似解链特性的 GH6 家族基因^[26]。泳道对比分析结果图谱[图 3(b)]中条带位置及条带相对亮度直观地反映了含有 GH6 家族基因种群丰度和多样性的动态变化。图 3 每个泳道中条带的相对亮度能反映出该条带所

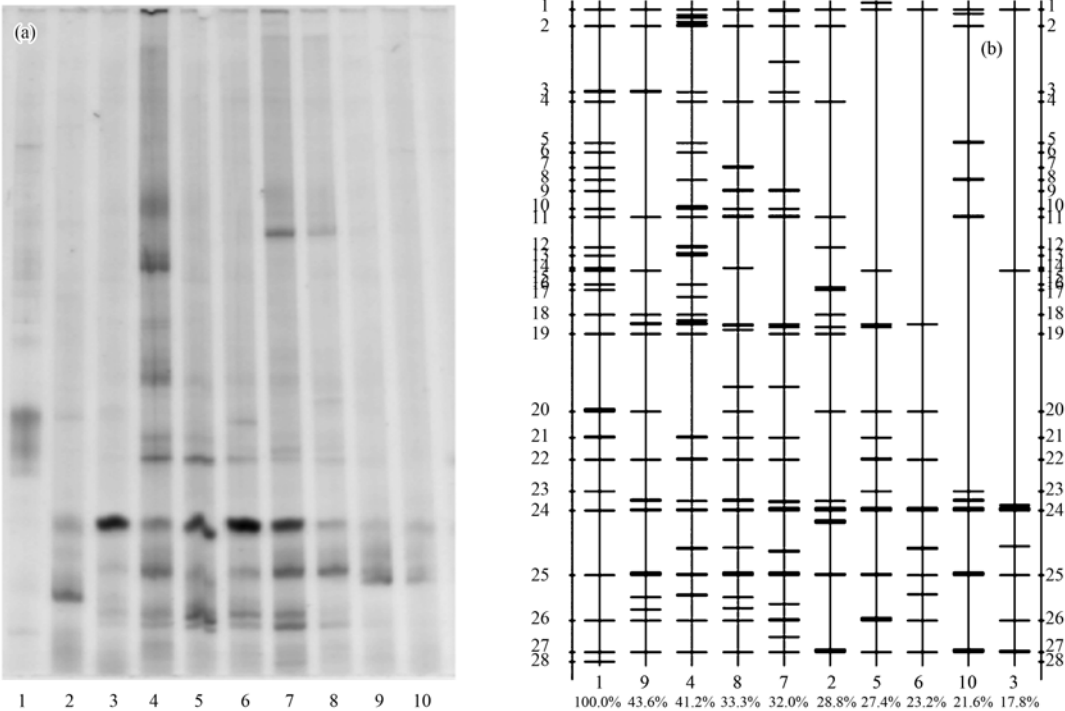
指示的菌群相对生物量的多少,并且不同泳道中的同一位置条带相对亮度的变化,能够反映该基因所指示的菌群的相对丰度变化^[15,27,28]。其中泳道 3、5~8 中编号为 24 的条带相对亮度最高,泳道 2、9 和 10 中为条带 25,这表明条带 24 和条带 25 所指示的菌群分别为降温期和腐熟期的优势菌种,且在高温期二者均有出现。大量研究表明,堆肥化过程中木质纤维素的降解主要发生在高温期和腐熟期^[29~31],高温期中嗜热细菌、真菌和放线菌是降解木质纤维素的主要微生物,这与本研究中纤维素降解优势菌种主要集中在高温期和腐熟期的结果相吻合。

2.3 堆肥样品中 GH6 家族基因多样性变化

堆肥化过程中 GH6 家族基因多样性变化如表 2 所示,各样品中 GH6 家族基因丰富度(S)、均匀度(E_h)和香农-威纳指数(H')均有差异。在堆肥化初期,堆体温度迅速上升,从第 0~4 d, GH6 家族基因丰富度由 28 迅速下降到最小值 8,随后在第 8 d 上升到最大值 29。香农-威纳指数 H' 在第 0 d 最高为 3.28,第 4 d 降到最小值 2.05。均匀度(E_h)整体差异不大。

2.4 冗余分析和蒙特卡罗置换检验结果

对环境因子矩阵和生物信息矩阵进行冗余分析结果如表 3 所示。所有排序轴均显著($P=0.002$),排序结果理想^[13]。其中前两个排序轴的特征值分别是 0.432 和 0.252,与 8 个环境因子的相关系数分



编号 1 ~ 10 分别对应第 0、2、4、8、10、12、15、20、30、50 d 样品; (b) 中横坐标% 表示各样品条带与第 0 d 样品条带的相似度

图 3 GH6 家族基因扩增片段 DGGE 分析结果及泳道对比分析结果
Fig. 3 DGGE profile of GH6 family genes fragments and land compare

表 2 堆肥化过程中 GH6 家族基因多样性

Table 2 Diversity indices of GH6 family genes during composting			
时间/d	丰富度 (<i>S</i>)	均匀度 (<i>E_h</i>)	香农-威纳指数 (<i>H'</i>)
0	28	0.984	3.28
2	16	0.863	2.39
4	8	0.988	2.05
8	29	0.968	3.26
10	13	0.969	2.48
12	10	0.950	2.19
15	23	0.963	3.02
20	22	0.952	2.94
30	17	0.977	2.77
50	11	0.992	2.38

表 3 GH6 家族基因 DGGE 图谱与环境因子冗余分析结果

Table 3 Redundancy analysis results for GH6 family genes, DGGE profiles, and environmental parameters				
结果	排序轴 1	排序轴 2	排序轴 3	排序轴 4
特征值	0.432	0.252	0.079	0.067
种群-环境因子相关系数	0.992	0.976	0.815	0.736
种群数量变化累积百分比/%	43.2	68.4	78.3	83.1
种群-环境因子关系变化的累积百分比/%	46.4	73.5	82.0	89.0
特征值总和				1.000
典范特征值总和				0.931

别为 0.992 和 0.976,排序轴 1 和排序轴 2 分别解释了 43.2% 和 25.2% 的 GH6 家族基因变化,4 个排序

轴总共解释了 83.1% 的 GH6 家族基因变化和 89.0% 的种群与环境因子相关关系. 实验中检测的 8 个理化参数总共解释了 93.1% 的总特征值,说明实验所测量的 8 个理化参数是影响堆肥过程中 GH6 家族基因变化的重要因素.

通过蒙特卡罗置换检验可以检验每个环境因子对 GH6 家族基因变化的解释率,从而将选取的环境因子按对 GH6 家族基因变化的影响大小进行排序,可以更直观地理解不同环境因子对 GH6 家族基因变化的影响^[32]. 蒙特卡罗置换检验结果如表 4 所示. 其中 pH、堆体温度和 TN 对 GH6 家族基因变化的解释率分别是 24.92%、15.57% 和 15.04%,且三者的 *P* 值均小于 0.05,表示三者是影响 GH6 家族基因变化的显著因子.

pH 是影响微生物降解纤维素的重要因素之一. 贾辉等^[33]发现 pH 过高或过低都会影响纤维素降解菌的生长代谢,从而降低纤维素的降解速率. 堆体温度是堆肥系统中微生物活动的反映和重要影响因素. 梁东丽等^[34]的研究发现,当堆体温度低于或等于 60℃ 时,堆体中的纤维素酶活与堆体温度呈显著正效应关系. 堆肥化过程中氮素是微生物生长代谢的主要营养元素之一,这使得堆体 TN 含量成为影响含有 GH6 家族基因的微生物活性的重要因素

表 4 蒙特卡罗置换检验分析每个环境因子对 GH6 家族基因变化的解释率结果

Table 4 Monte Carlo permutation test between GH6 family genes and each environmental parameter

环境因子	pH	堆体温度	TN	TOM	C/N	含水率	环境温度	WSC
特征值	0.232	0.166	0.127	0.083	0.078	0.075	0.071	0.058
变量单独解释量/%	24.92	15.57	15.04	12.47	8.27	7.73	5.47	3.63
P 值	0.002	0.004	0.004	0.124	0.174	0.432	0.488	0.680

之一^[13]。

2.5 基于冗余分析的 *t*-value 分析结果

为了进一步揭示堆肥过程中 3 个显著因子与含有 GH6 家族基因物种演替之间的相关关系,在冗余分析的基础上,采用 CanoDraw 分析得到 3 个显著因子的 *t*-value 双序图(图 4)。图 4 中黑色虚线代表 DGGE 图谱中不同 GH6 家族基因条带分析得到的不同物种,黑色实线代表 3 个显著因子,实线圆部分表示正相关,虚线圆部分表示负相关,面积越大,该理化参数对 GH6 家族基因变化的影响越大。当某物种箭头完全在实线(与实线圆对称的虚线圆)圆内时,表明该物种的动态变化与该环境因子显著正相关(负相关);当某物种箭头穿过实线(与实线圆对称的虚线圆)圆时,表明该物种的动态变化与该环境因子正相关(负相关)但不显著^[17]。如图 4 中,编号 20~23 所代表的物种变化与 pH 显著正相关,编号 11~19 所代表的物种变化与 pH 正相关但不显著。从图 4 中可以看出,pH、堆体温度和 TN 三者圆面积代表的影响程度相对大小分别是 pH>堆体温度>TN,这与蒙特卡罗置换检验结果(表 4)得到的变量单独解释量相吻合。并且按照含有 GH6 家族基因的物种变化与环境因子之间的正负相关性,可将 DGGE 图谱中分析得到的不同物种大致分为 5 类,其中编号 4~10 所代表的物种为一类,编号 11~14 为一类,编号 15~17 为一类,编号 20~23 为一类,编号 24~27 为一类。郭香麟等^[35]的研究表明,温度是影响餐厨垃圾和秸秆混合厌氧消化过程中细菌和放线菌降解木质纤维素的重要因素。冯红梅等^[36]从高温期堆肥样品中筛选得到 6 株纤维素降解菌,发现混合菌群在 45℃ 条件下培养时,具有最大酶活。张桂山等^[37]通过分离筛选得到不同的纤维素降解细菌表明,pH 对不同菌株的纤维素降解酶活影响不同。黄玉梓等^[38]的研究发现,土壤中纤维素降解微生物在不同 N 含量环境下具有不同的响应机制,当以 60、120 和 240 kg·(hm²·a)⁻¹的 N 沉降量处理人工杉木林,其中 60 与 120 kg·(hm²·a)⁻¹的 N 处理后,土壤呼吸速率与土壤纤维素酶活性呈正相关性,而 240 kg·(hm²·a)⁻¹的 N

处理则不显著。在下一步的研究中,通过构建堆肥化体系中 GH6 家族基因系统发育树、优势菌群落演替等分析,系统揭示这些不同种类微生物的功能和生长特征,从而深入完善堆肥化体系中 GH6 家族基因的研究,将有望通过对理化因子的调控实现对农业废物堆肥化中参与纤维素降解微生物群落的精细控制。

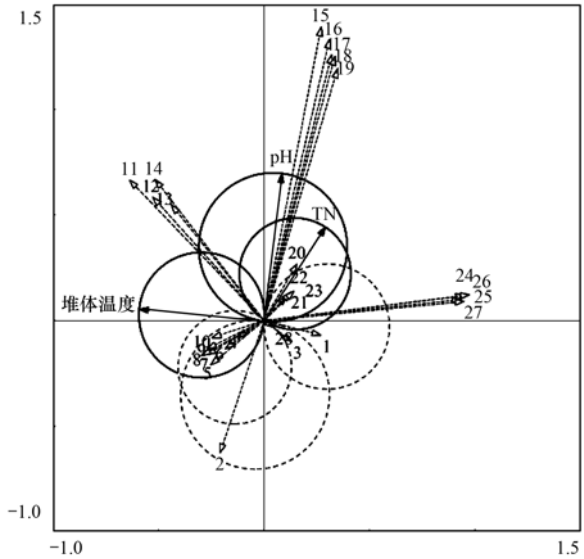


图 4 3 个显著因子与 GH6 家族基因变化的 RDA *t*-value 双序图

Fig. 4 The *t*-value biplot base on a redundancy analysis of three significant factors and the GH6 family genes changes

3 结论

(1)在农业废物稻草好氧堆肥化过程中,糖苷水解酶 GH6 家族基因多样性和丰度随着堆肥化进程整体呈现出波动趋势。含 GH6 家族基因的优势菌种在堆体不同时期有所不同。

(2)对构建的生物信息矩阵和环境因子矩阵进行冗余分析表明,堆肥化过程中测量的 8 个理化参数共解释了 83.1% 的 GH6 家族基因变化,对 GH6 家族基因变化有重要影响。蒙特卡罗置换检验表明,8 个理化参数对 GH6 家族基因变化影响的大小为:pH>堆体温度>TN>TOM>C/N>含水率>环境温度>WSC。其中 pH、堆体温度和 TN 是影响 GH6 家族基因变化的显著因子($P<0.05$),三者分别解释了 24.92%、15.57% 和 15.04% 的 GH6 家族

基因变化.

(3)采用基于冗余分析的 *t*-value 分析方法分析 GH6 家族基因所代表的物种与 3 个显著因子的正负相关性表明,实验中所检测到的含 GH6 家族基因的微生物,按与不同环境因子的正负相关性,大体可分为 5 类,其中编号 4~10 的微生物群落变化与堆体温度显著正相关,与 pH 和 TN 显著负相关,编号 20~23 的微生物群落变化与 pH 和 TN 都呈显著正相关关系. 这些具有显著性相关的因子是影响 GH6 家族基因变化的主要因子,这与蒙特卡罗置换检验结果相吻合.

参考文献:

- [1] 王晶晶, 王钱钱, 张超群, 等. 功能性再生纤维素复合膜的制备及性能研究进展[J]. 化工进展, 2016, **35**(2): 341-351.
Wang J J, Wang Q Q, Zhang C Q, *et al.* Research progress on preparation and properties of functional regenerated cellulose composite membranes[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2016, **35**(2): 341-351.
- [2] 王得武, 姚拓, 杨巧丽, 等. 高效稳定纤维素分解菌筛选及其分解特性研究[J]. 草业学报, 2014, **23**(2): 253-259.
Wang D W, Yao T, Yang Q L, *et al.* Screening and degradation characterization of efficient and stable cellulose degrading microbial communities[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2014, **23**(2): 253-259.
- [3] 陈耀宁, 谭雪斌, 黎媛萍, 等. 绿色木霉和黄孢原毛平革菌混合降解稻草秸秆中的 VOCs[J]. 环境工程学报, 2016, **10**(11): 6635-6641.
Chen Y N, Tan X B, Li Y P, *et al.* Volatile productions during mixed culture to degrade straw between *Trichoderma viride* and *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, **10**(11): 6635-6641.
- [4] 邓辉, 王成, 吕蒙蒙, 等. 堆肥过程放线菌演替及其木质纤维素降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2013, **19**(4): 581-586.
Deng H, Wang C, Lv H H, *et al.* Research progress in succession of actinomycetal communities and their capacity of degrading lignocellulose during composting process[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, **19**(4): 581-586.
- [5] Merlin C, Besaury L, Niepceon M, *et al.* Real-time PCR for quantification in soil of glycoside hydrolase family 6 cellulase genes[J]. Letters in Applied Microbiology, 2014, **59**(3): 284-291.
- [6] 沈莹, 胡天觉, 曾光明, 等. 简青霉 (*Penicillium simplicissimum*) 对木质纤维素的降解及相关酶活性特征[J]. 环境科学, 2013, **34**(2): 781-788.
Shen Y, Hu T J, Zeng G M, *et al.* Biodegradation of lignocellulose by *Penicillium simplicissimum* and characters of lignocellulolytic enzymes[J]. Environmental Science, 2013, **34**(2): 781-788.
- [7] Liu Y, Yoshida M, Kurakata Y, *et al.* Crystal structure of a glycoside hydrolase family 6 enzyme, CcCel6C, a cellulase constitutively produced by *Coprinopsis cinerea* [J]. The FEBS Journal, 2010, **277**(6): 1532-1542.
- [8] 赵晨阳, 魏源送, 葛振, 等. 连续流强制通风槽式污泥堆肥工艺的温室气体和氨气排放特征[J]. 环境科学, 2014, **35**(7): 2798-2806.
Zhao C Y, Wei Y S, Ge Z, *et al.* Emissions of greenhouse gas and ammonia from sewage sludge composting by continuous aerated turning pile[J]. Environmental Science, 2014, **35**(7): 2798-2806.
- [9] Chen Y N, Zhou W, Li Y P, *et al.* Nitrite reductase genes as functional markers to investigate diversity of denitrifying bacteria during agricultural waste composting[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, **98**(9): 4233-4243.
- [10] Sundberg C, Yu D, Franke-Whittle I, *et al.* Effects of pH and microbial composition on odour in food waste composting[J]. Waste Management, 2013, **33**(1): 204-211.
- [11] Chen Y N, Ma S, Li Y P, *et al.* Microbiological study on bioremediation of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) contaminated soil by agricultural waste composting [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, **100**(22): 9709-9718.
- [12] 赵晨阳, 李洪枚, 魏源送, 等. 翻堆频率对猪粪条垛堆肥过程温室气体和氨气排放的影响[J]. 环境科学, 2014, **35**(2): 533-540.
Zhao C Y, Li H M, Wei Y S, *et al.* Effects of turning frequency on emission of greenhouse gas and ammonia during swine manure windrow composting[J]. Environmental Science, 2014, **35**(2): 533-540.
- [13] 胡春晓, 陈耀宁, 张嘉超, 等. 农业废物好氧堆肥中环境因子对 *nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 数量的影响[J]. 环境科学, 2013, **34**(3): 1196-1203.
Hu C X, Chen Y N, Zhang J C, *et al.* Effects of physico-chemical parameters on the abundance of the denitrification-associated genes *nirK*, *nirS* and *nosZ* during agricultural waste composting[J]. Environmental Science, 2013, **34**(3): 1196-1203.
- [14] 薄国栋, 申国明, 陈旭, 等. 秸秆还田对植烟土壤酶活性及细菌群落多样性的影响[J]. 中国烟草科学, 2017, **38**(1): 53-58.
Bo G D, Shen G M, Chen X, *et al.* Effect of straw returning on soil enzyme activities and diversity of bacterial communities in tobacco planting fields[J]. Chinese Tobacco Science, 2017, **38**(1): 53-58.
- [15] 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.
- [16] Manly B F J. Randomization, bootstrap and monte carlo methods in biology (3rd ed.) [M]. London: CRC Press, 2006. 59-123.
- [17] Lepš J, Šmilauer P. Multivariate analysis of ecological data using CANOCO [M]. New York: Cambridge University Press, 2003. 28-89.
- [18] 姜新有, 王晓东, 周江明, 等. 初始 pH 值对畜禽粪便和菌渣混合高温堆肥的影响[J]. 浙江农业学报, 2016, **28**(9): 1595-1602.
Jiang X Y, Wang X D, Zhou J M, *et al.* Effects of initial pH values on maturity and nitrogen loss during co-composting of pig manure and edible fungus residue [J]. Acta Agriculturae

- Zhejiangensis, 2016, **28**(9): 1595-1602.
- [19] Bazrafshan E, Zarei A, Mostafapour F K, *et al.* Maturity and stability evaluation of composted municipal solid wastes [J]. Health Scope, 2016, **5**(1): e33202.
- [20] 杨萍萍, 尹华, 彭辉, 等. 外接菌种对污泥堆肥效能及堆体细菌群落的影响[J]. 环境科学, 2017, **38**(8): 3536-3543. Yang P P, Yin H, Peng H, *et al.* Effects of exogenous microorganisms inoculation on efficiency and bacterial community structure of sludge composting [J]. Environmental Science, 2017, **38**(8): 3536-3543.
- [21] 朱丽平, 许修宏, 张文浩, 等. 牛粪堆肥中反硝化细菌与理化参数的关系[J]. 农业环境科学学报, 2016, **35**(9): 1781-1787. Zhu L P, Xu X H, Zhang W H, *et al.* Correlationship between denitrifying bacteria and physicochemical factors in cow manure composting[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2016, **35**(9): 1781-1787.
- [22] 陈耀宁, 黄爱知, 黎媛萍, 等. 硝化抑制剂对农业废物好氧堆肥理化性质及反硝化功能基因的影响[J]. 环境工程学报, 2016, **10**(8): 4451-4456. Chen Y N, Huang A Z, Li Y P, *et al.* Effect of nitrification inhibitor on physico-chemical properties and denitrification functional genes during agricultural waste composting [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, **10**(8): 4451-4456.
- [23] Goyal S, Dhull S K, Kapoor K K. Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity [J]. Bioresource Technology, 2005, **96**(14): 1584-1591.
- [24] Zhang J C, Zeng G M, Chen Y N, *et al.* Impact of *Phanerochaete chrysosporium* inoculation on indigenous bacterial communities during agricultural waste composting[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, **97**(7): 3159-3169.
- [25] Zeng G M, Yu Z, Chen Y N, *et al.* Response of compost maturity and microbial community composition to pentachlorophenol (PCP)-contaminated soil during composting [J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(10): 5905-5911.
- [26] 吴文卫, 刘昂, 谷照虎, 等. 采用 PCR-DGGE 技术研究处理农田退水组合人工湿地微生物群落特征[J]. 应用与环境生物学报, 2016, **22**(6): 978-985. Wu W W, Liu A, Gu Z H, *et al.* A PCR-DGGE study of bacteria community diversity in the constructed wetland treated with agricultural return flow[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2016, **22**(6): 978-985.
- [27] 何莉莉, 杨慧敏, 钟哲科, 等. 生物炭对农田土壤细菌群落多样性影响的 PCR-DGGE 分析[J]. 生态学报, 2014, **34**(15): 4288-4294. He L L, Yang H M, Zhong Z K, *et al.* PCR-DGGE analysis of soil bacterium community diversity in farmland influenced by biochar[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, **34**(15): 4288-4294.
- [28] 徐影, 仇天雷, 韩梅琳, 等. PCR-DGGE 技术解析固体碳源表面生物膜的微生物群落结构[J]. 环境科学, 2013, **34**(8): 3257-3263. Xu Y, Qiu T L, Han M L, *et al.* Analysis on microbial community in biofilm coating onto solid carbon source using the PCR-DGGE technique [J]. Environmental Science, 2013, **34**(8): 3257-3263.
- [29] Albrecht R, Périssol C, Ruau del F, *et al.* Functional changes in culturable microbial communities during a co-composting process: carbon source utilization and co-metabolism [J]. Waste Management, 2010, **30**(5): 764-770.
- [30] Yu H Y, Zeng G M, Huang H L, *et al.* Microbial community succession and lignocellulose degradation during agricultural waste composting[J]. Biodegradation, 2007, **18**(6): 793-802.
- [31] 黄红丽, 曾光明, 黄国和, 等. 堆肥中木质素降解微生物对腐殖质形成的作用[J]. 中国生物工程杂志, 2004, **24**(8): 29-31. Huang H L, Zeng G M, Huang G H, *et al.* Current study on the effect of lignolytic organisms on humus formation in composting [J]. Progress in Biotechnology, 2004, **24**(8): 29-31.
- [32] 马少博, 朱津永, 陆开宏, 等. 铜锈环棱螺 (*Bellamya aeruginosa*) 对藻华水体中浮游动物群落的影响[J]. 生态学杂志, 2016, **35**(7): 1872-1878. Ma S B, Zhu J Y, Lu K H, *et al.* Impact of freshwater gastropod (*Bellamya aeruginosa*) on the zooplankton community in the water body experiencing a cyanobacterial bloom [J]. Chinese Journal of Ecology, 2016, **35**(7): 1872-1878.
- [33] 贾辉, 陈秀蓉, 芦光新, 等. 纤维素降解细菌的筛选、生物学特性及降解效果[J]. 草业学报, 2016, **25**(3): 60-66. Jia H, Chen X R, Lu G X, *et al.* Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their degradation activity[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2016, **25**(3): 60-66.
- [34] 梁东丽, 谷洁, 秦清军, 等. 农业废弃物静态高温堆肥过程中纤维素酶活性的变化[J]. 环境科学学报, 2009, **29**(2): 323-329. Liang D L, Gu J, Qin Q J, *et al.* Cellulase activities of a gricultural waste materials during static composting at high temperature[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2009, **29**(2): 323-329.
- [35] 郭香麟, 左剑恶, 史绪川, 等. 餐厨垃圾与秸秆混合中温和高温厌氧消化对比[J]. 环境科学, 2017, **38**(7): 3070-3077. Guo X L, Zuo J E, Shi X C, *et al.* Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of food waste and straw [J]. Environmental Science, 2017, **38**(7): 3070-3077.
- [36] 冯红梅, 秦永胜, 李筱帆, 等. 高温纤维素降解菌群筛选及产酶特性[J]. 环境科学, 2016, **37**(4): 1546-1552. Feng H M, Qin Y S, Li X F, *et al.* Screening and enzyme production characteristics of thermophilic cellulase-producing strains[J]. Environmental Science, 2016, **37**(4): 1546-1552.
- [37] 张桂山, 崔秀艳, 徐晶, 等. 温度和 pH 对鹅肠道细菌纤维素酶活力的影响[J]. 吉林农业科学, 2008, **33**(1): 54-55, 59. Zhang G S, Cui X Y, Xu J, *et al.* Effect of temperature and pH on activity of bacterial cellulase from geese intestinal tract[J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 2008, **33**(1): 54-55, 59.
- [38] 黄玉梓, 樊后保, 李燕燕, 等. 氮沉降对杉木人工林土壤呼吸与土壤纤维素酶活性的影响[J]. 福建林学院学报, 2009, **29**(2): 120-124. Huang Y Z, Fan H B, Li Y Y, *et al.* Impacts of nitrogen deposition on the soil respiration rate and soil cellulase enzyme activity in Chinese fir plantation[J]. Journal of Fujian College of Forestry, 2009, **29**(2): 120-124.

CONTENTS

Development of a Non-Road Mobile Source Emissions Inventory for Tianjin	ZHANG Yi, Andre Michel, LI Dong, <i>et al.</i> (4447)
Spatial Simulation of Black Carbon Concentrations Based on a Land Use Regression Model and Mobile Monitoring over Shanghai, China	PENG Xia, SHE Qian-nan, LONG Ling-bo, <i>et al.</i> (4454)
Characteristics and Sources of Elements of a PM ₁₀ Measurements from a Typical Industrial City in Eastern Hubei Province	ZHAN Chang-lin, ZHANG Jia-quan, ZHENG Jing-ru, <i>et al.</i> (4463)
Characteristics and Source Identification of Carbonaceous Aerosols in PM _{2.5} Measurements During Summer and Fall in Changzhou	YE Zhao-lian, LIU Jia-shu, LI Qing, <i>et al.</i> (4469)
Characteristics and Sources of Water Soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter During Winter in Xuzhou	FAN Mei-yi, CAO Fang, ZHANG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (4478)
Physiochemical Properties and Sources of Atmospheric Particulate Matter During Pollution Monitoring in Nanning, China	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, LI Hong-jiao, <i>et al.</i> (4486)
Concentration and Size Distribution Characteristics of Culturable Bioaerosols at Various Air Quality Levels During Fall and Winter in Xi'an, China	LI Wan-xin, LU Rui, XIE Zheng-sheng, <i>et al.</i> (4494)
Distribution Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter and Nutrients from the Yellow Sea and Bohai Sea in Autumn	TANG Yong, SUN Yu-yan, SHI Xiao-yong, <i>et al.</i> (4501)
Characteristics and Risks of Heavy Metals Content in Surface Sediment of Tidal Flat Areas in Eastern China	ZHANG Ming, BAO Zhen-yu, CHEN Guo-guang, <i>et al.</i> (4513)
Heavy Metals in Sediments from the Haizhou Bay Marine Ranching Based on Geochemical Characteristics	LI Da-peng, ZHANG Shuo, ZHANG Zhong-fa, <i>et al.</i> (4525)
Major Ionic Features and Their Possible Controls in the Water of the Niyang River Basin	ZHANG Tao, CAI Wu-tian, LI Ying-zhi, <i>et al.</i> (4537)
Vertical Distribution Characteristics of Fe and Mn in Subtropical Reservoirs During Summer	YANG Si-yuan, ZHAO Jian, YU Hua-zhang, <i>et al.</i> (4546)
Occurrence, Distribution, and Ecological Risk of Antibiotics in Surface Water in the Liaohe River Basin, China	ZHANG Xiao-jiao, BAI Yang-wei, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4553)
Effects of Optimized Fish Farming on the Sediment Nutrients of Eastern Lake Taihu	HE Xiao-wei, CHU Yu, ZENG Jin, <i>et al.</i> (4562)
Responses of the Benthic Diatom Community to Nutrients and the Identification of Nutrient Thresholds in Three Aquatic Ecoregions of the Huntai River, Northeast China	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4570)
Impacts of Environmental Conditions on the Soaking Release of Nitrogen and Phosphorus from <i>Cynodon dactylon</i> (Linn.) Pers. in the Water-level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region	XIAO Li-wei, ZHU Bo (4580)
Effects of Soil Microbial Diversity on the Phosphate Fraction in the Rhizosphere of <i>Phragmites communis</i> in the Yeyahu Wetland in Beijing, China	TENG Ze-dong, LI Min, ZHU Jing, <i>et al.</i> (4589)
Nitrification and Denitrification Potential of Benthic Sediments in a Suburban Stream under Intense Human Disturbance Scenarios	LI Ru-zhong, ZHENG Xia, GAO Su-di, <i>et al.</i> (4598)
Distribution of External Phosphorus in the Sedimentary Phosphorus forms Under Different Disturbances	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, TANG Xin-yu, <i>et al.</i> (4607)
Effect of <i>Elodea nuttallii</i> -Immobilized Nitrogen Cycling Bacteria on the Mechanism of Nitrogen Removal in Polluted River Water	WANG Hao, LI Zheng-kui, ZHANG Yi-pin, <i>et al.</i> (4617)
Zero-Valent Iron (ZVI) Activation of Persulfate (PS) for Oxidation of Arsenic (V) Form Aqueous Solutions	ZHOU Zi-mai, DENG Wen-na, YANG Yi-lin, <i>et al.</i> (4623)
Removal of Antimony from Water by Nano Zero-Valent Iron/Activated Carbon Composites	JIANG Ting, BAO Yue, LI Wei, <i>et al.</i> (4632)
Effect of the Flow Patterns of Main-stream Reactors on the Efficiency of Nitrification Enhancement with Bioaugmentation	YU Li-fang, DU Qian-qian, ZHANG Ru, <i>et al.</i> (4641)
Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance and the Extracellular Polymeric Substance (EPS) in a Sequencing Batch Reactor (SBR)	SUN Hong-wei, CHEN Cui-zhong, WU Chang-feng, <i>et al.</i> (4648)
Effects of Temperature on Shortcut Nitrification and Nitrification Activity of Nitrification in an Intermittent Aeration Sequencing Batch Reactor	LIU Hong, PENG Yong-zhen, LU Jiong-yuan, <i>et al.</i> (4656)
Nitrite Type Denitrifying Phosphorus Removal Capacity of Cycle Activated Sludge Technology Processes Under Different Inducing Patterns	MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (4664)
Laboratory-scale CANON Processes Applied to Wastewater Treatment Plants	LI Dong, ZHAO Shi-xun, WANG Jun-an, <i>et al.</i> (4673)
Effects of Magnetic Activated Carbon with Different Particle Sizes on Sludge Granulation in a SBR System	XIN Xin, GUAN Lei, GUO Jun-yuan, <i>et al.</i> (4679)
Storage and Reactivation of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) Sludge at Room Temperature	HUANG Jia-lu, WANG Xiao-long, GAO Da-wen (4687)
Microbial Population Dynamics During Sludge Granulation in a Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal System	GAO Jing-feng, WANG Shi-jie, FAN Xiao-yan, <i>et al.</i> (4696)
Anaerobic Reduction Process Characteristics and Microbial Community Analysis for Sulfate and Fe(II) EDTA-NO ₃ /Fe(III) EDTA	ZHANG Yu, WAN Fang, ZHOU Ji-ti (4706)
Treatment Efficiency and Microbial Community Diversity in a Magnetic Field Enhanced Sequencing Batch Reactor (SBR)	GENG Shu-ying, FU Wei-zhang, WANG Jing, <i>et al.</i> (4715)
Molecular Research of Acid-Generating Microbial Communities in Abandoned Ores in the Waste Dump of an Iron Mine in Anhui Province	DU Ze-rui, HAO Chun-bo, PEI Li-xin, <i>et al.</i> (4725)
Microbial Community Diversity and Differences in Cellar water of Typical Rainwater Harvesting Area	YANG Hao, ZHANG Guo-zhen, YANG Xiao-ni, <i>et al.</i> (4733)
Impact of the Biodegradation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol on the Bacterial Community Structure of Surface Sediment	WANG Dan, HOU Zhen, ZHANG Qi, <i>et al.</i> (4747)
Degradation Process of Exogenous Naphthenic Acids and Their Effects on Microbial Community Structure in Soil	LIU Yan-qiu, ZHAO Yan-ran, LIU Meng-jiao, <i>et al.</i> (4756)
Identification and Nitrogen Removal Characteristics of the Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterial Strain DK1	MU Dong-yang, JIN Peng-fei, PENG Yong-zhen, <i>et al.</i> (4763)
Mercury Release Flux and Its Influencing Factors Under Four Typical Vegetation Covers at Jinyun Mountain, Chongqing	YANG Guang, SUN Tao, AN Si-wei, <i>et al.</i> (4774)
Short-term Effects of Nitrogen Deposition on CO ₂ and CH ₄ Fluxes from Wetlands in the Minjiang River Estuary	LI Dong-dong, TONG Chuan, TAN Li-shan, <i>et al.</i> (4782)
Effects of Plastic Film Mulching on Methane and Nitrous Oxide Emissions from a Rice-Rapeseed Crop Rotation	SHI Jiang-lai, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (4790)
Assessment of Pollution, Sources, and Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil from Urban Parks in Xi'an City, China	ZHOU Yan, LU Xin-wei (4800)
Spatial Distribution of Soil Particles and Heavy Metals Under Different Psammophilic Shrubs in the Ulan Buh Desert	DAI Yu-jie, GUO Jian-ying, DONG Zhi, <i>et al.</i> (4809)
Effects of UV-B Radiation on Soil Carbon and Nitrogen Transformation under Different Soil Moisture Contents from Two Paddy Fields	JIANG Meng-die, WANG Qiu-min, XU Peng, <i>et al.</i> (4819)
Various effects on the Abundance and Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Soils in Karst Shrub Ecosystems	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (4828)
Remediation of Cd/Ni Contaminated Soil by Biochar and Oxalic Acid Activated Phosphate Rock	DUAN Ran, HU Hong-qing, FU Qing-ling, <i>et al.</i> (4836)
Effects of Repeated Freezing and Thawing and High Temperature Aging on the Solidification and Stabilization of Arsenic Contaminated Soil	YANG Jie, QIAN Zhao-qiu, WANG Jing (4844)
Evaluation of the Combined Removal of Heavy Metals by Saponin and Citric Acid from Municipal Sewage Sludges and Metal Stability Features	YE Tao, HUANG Li, ZHANG Ke-qiang, <i>et al.</i> (4850)
Interactions between Goethite and Humic Acid and the Stability of Goethite-Humic Acid Complex	WANG Rui, ZHU Chao-ju, XIANG Wen-jun, <i>et al.</i> (4860)
Contents and Health Risks of Organic Phosphorus Esters in Plastic Runway Products	YIN Hong-ling, LIU Qin, LIAO Lin-qun, <i>et al.</i> (4868)
Effects on Physico-chemical Parameters of Glycoside Hydrolase Family 6 Genes During Composting of Agricultural Waste	CHEN Yao-ning, GOU Yu, LI Yuan-ping, <i>et al.</i> (4874)
Effect of the Food to Mass Ratio and Hydraulic Retention Time on Hydrogen Production from Fruit and Vegetable Waste	LI Biao, KONG Xiao-ying, LI Lian-hua, <i>et al.</i> (4882)
Comment on Sensitivity Analysis Methods for Environmental Models	CHEN Wei-ping, TU Hong-zhi, PENG Chi, <i>et al.</i> (4889)