

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第6期

Vol.39 No.6

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

北京市二次有机气溶胶生成潜势的日变化规律	刘俊, 楚碧武, 贺泓 (2505)
太原冬季 PM _{2.5} 影响霾污染的关键尺度谱特征	杨素英, 余欣洋, 赵秀勇, 李义宇, 孙洪博, 田芷洁, 李岩, 吴尚, 王梓航 (2512)
盘锦市冬季 PM _{2.5} 水溶性离子特征及来源分析	张蕾, 姬亚芹, 王士宝, 赵静琦, 张军, 李越洋, 张伟 (2521)
广州市天河区 2016 年雨季挥发性有机物污染特征及来源解析	古颖纲, 虞小芳, 杨闻达, 田智林, 李梅, 程鹏 (2528)
热带树木燃烧颗粒物中脱水糖和醋基烯的排放特征	金诚妙, 崔敏, 韩勇, 陈颖军, 唐娇, 李军, 张干 (2538)
天津地区污染天气分析中垂直扩散指标构建及运用	蔡子颖, 韩素芹, 张敏, 姚青, 刘敬乐 (2548)
亚热带农田和林地大气氨湿沉降与混合沉降比较	朱潇, 王杰飞, 沈健林, 肖润林, 王娟, 吴金水, 李勇 (2557)
京津冀地区黄标车政策的总量减排效益评估	卢亚灵, 周佳, 程曦, 张伟, 蒋洪强 (2566)
北京北运河河流生态系统健康评价	顾晓昀, 徐宗学, 刘麟菲, 殷旭旺, 王汨 (2576)
长江武汉段丰水期水体和沉积物中多环芳烃及邻苯二甲酸酯类有机污染物污染特征及来源分析	董磊, 汤显强, 林莉, 郇超, 黎睿, 吴敏 (2588)
福建省敖江下游抗生素抗性基因分布特征	张丹丹, 郭亚平, 任红云, 周昕原, 黄福义, 张炯 (2600)
三峡库区支流河口沉积物重金属分布特征及风险评价	方志青, 陈秋禹, 尹德良, 王志康, 孙涛, 王永敏, 谢德体, 王定勇 (2607)
三峡水库蓄水至 175 m 后干流沉积物理化性质与磷形态分布特征	潘婊娟, 黎睿, 汤显强, 夏振尧, 李青云, 杨文俊, 许文年 (2615)
基于水化学和稳定同位素的白洋淀流域地表水和地下水硝酸盐来源	孔晓乐, 王仕琴, 丁飞, 梁慧雅 (2624)
天目湖沙河水库热分层变化及其对水质的影响	孙祥, 朱广伟, 笄文怡, 余茂蕾, 杨文斌, 朱梦圆, 许海, 国超旋, 余丽, 李恒鹏, 李慧赞 (2632)
重庆雪玉洞滴水水文地球化学时空变化特征及其环境意义	曾泽, 蒋勇军, 吕现福, 曾思博, 胡刘焯, 雷佳琪 (2641)
岩溶地表河旱季有色溶解有机质组成及来源: 以金佛山碧潭河为例	刘跃, 贺秋芳, 刘宁坤, 刘九雄, 王正雄, 段世辉 (2651)
托来河流域不同海拔降水稳定同位素的环境意义	李永格, 李宗省, 冯起, 肖莲桂, 吕越敏, 桂娟, 袁瑞丰, 张百娟 (2661)
五里峡水库初级生产力对水气界面二氧化碳和甲烷排放速率时空变化的影响	彭文杰, 李强, 宋昂, 靳振江 (2673)
西南山区典型河道型水库藻类功能群时空演替特征及其影响因素: 以紫坪铺水库为例	张耀文, 李洪, 李嘉, 宋洋, 张陵蕾, 李永, 蒲迅赤, 黄文典 (2680)
四明湖水库浮游植物功能类群的季节演替及其影响因子	郑诚, 陆开宏, 徐镇, 郑志明, 朱津永 (2688)
营养盐添加对水华蓝藻——卵孢金胞藻生长和竞争影响的原位实验	王梦梦, 张伟, 张军毅, 尚光霞, 杜彩丽, 王丽卿 (2698)
植物配置与进水碳氮比对沉水植物塘水质净化效果的影响	刘森, 陈开宁 (2706)
江汉平原水稻季灌排单元沟渠中氮磷变化特征及其环境风险	华玲玲, 张富林, 翟丽梅, 刘宏斌, 范先鹏, 王洪媛 (2715)
冀西北典型北方小城镇污水处理厂中抗生素的分布和去除	柴玉峰, 张玉秀, 陈梅雪, 王瑞, 柳蒙蒙, 郑嘉熹, 魏源送 (2724)
臭氧-粉末炭联用作为预处理缓解膜污染的效果与机制	董秉直, 高昊旻, 胡孟柳 (2732)
中试 SAD-ASBR 系统处理含盐废水的启动与工艺特性	于德爽, 唐佳佳, 张军, 王晓霞, 赵红, 韩长民, 孙捷 (2740)
海藻酸钙/聚 N-异丙基丙烯酰胺半互穿网络凝胶球的除磷性能	曾学阳, 骆华勇, 张耀坤, 荣宏伟, 曾子君, 钟广汇 (2748)
玉米淀粉废水短程硝化快速启动及其稳定性	龙北生, 刘迅雷, 刘红波, 杨靖新, 袁树森 (2756)
硝化细菌的培养及包埋固定化中试	杨宏, 胡银龙 (2763)
不同运行策略下厌氧氨氧化的脱氮性能	安芳娇, 彭永臻, 董志龙, 邵兆伟, 赵智超, 黄剑明, 陈永志 (2770)
高含固污泥厌氧消化中蛋白质转化规律	詹瑜, 施万胜, 赵明星, 许之扬, 阮文权, 宋联, 朱葛 (2778)
污泥富磷堆肥前后重金属赋存形态及释放能力变化	李玉, 方文, 祁光霞, 魏勇红, 刘建国, 李润东 (2786)
丝状菌污泥膨胀对脱氮除磷功能菌群的影响	高晨晨, 游佳, 陈轶, 郑兴灿, 尚巍, 张文安 (2794)
同步去除并富集磷酸盐生物膜驯化过程中微生物种群分析	孟璇, 潘杨, 章豪, 廖恒弘, 徐林建, 冯鑫, 单捷 (2802)
四环素对人工粪堆好氧堆肥过程及微生物群落演替的影响	时红蕾, 王晓昌, 李倩, 刘源 (2810)
长期定位有机物还田对关中平原夏玉米-冬小麦轮作土壤 NO 排放的影响	袁梦轩, 王晋峰, 谭跃慧, 魏静, 杨学云, 顾江新 (2819)
菌渣还田量对紫色水稻土净温室气体排放的影响	祁乐, 高明, 周鹏, 王富华, 高泳钦, 陈仕奇, 吴思琪, 邓静霖, 文婷 (2827)
¹³ C 脉冲标记法定量冬小麦光合碳分配及其向地下的输入	孙昭安, 陈清, 韩笑, 吴文良, 孟凡乔 (2837)
西南喀斯特区植被恢复对土壤氮素转化通路的影响	杨怡, 欧阳运东, 陈浩, 肖孔操, 李德军 (2845)
江苏海岸带土壤重金属来源解析及空间分布	吕建树, 何华春 (2853)
黄河下游典型区域土壤重金属来源解析及空间分布	于元赫, 吕建树, 王亚梦 (2865)
典型小城市土壤重金属空间异质性及风险评价: 以临安市为例	郑晴之, 王楚栋, 王诗涵, 林于也, 赵科理, 吴东涛, 傅伟军 (2875)
西南某铅锌矿区农田土壤重金属空间主成分分析及生态风险评价	周艳, 陈楠, 邓绍坡, 王金忠, 张胜田, 龙涛, 李群, 林玉锁, 吴运金 (2884)
典型山核桃产区土壤重金属空间异质性及风险评价	张红桔, 赵科理, 叶正钱, 许斌, 赵伟明, 顾晓波, 张华锋 (2893)
生物炭添加对湿地植物生长及氧化应激响应的影响	黄磊, 陈玉成, 赵亚琦, 肖广全, 杨志敏 (2904)
厌氧条件水稻土铁对砷释放的影响	王欣, 钟松雄, 陈志良, 何宏飞, 董家华, 陈晓丽 (2911)
矿业活动影响稻田土壤和稻米中重金属含量及健康风险	田美玲, 钟雪梅, 张云霞, 余元元, 庞瑞, 周浪, 宋波 (2919)
硅酸钙和生物腐殖肥复配对葱生长和镉吸收的影响	刘德玲, 尹光彩, 陈志良, 林亲铁, 刘千钧, 钟松雄, 黄玲, 张建强 (2927)
吉林四平设施土壤和蔬菜中重金属的累积特征	李莲芳, 朱昌雄, 曾希柏, 李红娜, 叶婧, 李峰, 吴翠霞 (2936)
喷施锌肥对油菜镉锌生物可给性的影响	王林, 谷朋磊, 李然, 徐应明, 孙约兵, 梁学峰, 代晶晶 (2944)
贵州草海底栖动物汞分布及其对沉积物汞的响应特征	许议元, 曾玲霞, 何天容, 陈梦瑜, 钱晓莉, 李振吉 (2953)
废旧轮胎翻新过程中多环芳烃排放及健康风险	付建平, 赵波, 黎玉清, 刘沙沙, 尹文华, 黄锦琼, 周长风, 张素坤, 贺德春, 韩静磊 (2963)
县级尺度的重庆市碳排放时空格局动态	孙秀峰, 施开放, 吴健平 (2971)
颗粒尺寸对纳米氧化物环境行为的影响	严玉鹏, 唐亚东, 万彪, 王小明, 刘凡, 冯雄汉 (2982)
防晒剂的海洋环境行为与生物毒性	朱小山, 黄静颖, 吕小慧, 杜永芬, 蔡中华 (2991)
《环境科学》征订启事 (2527)	《环境科学》征稿简则 (2723)
信息 (2826, 2852, 2910)	

四环素对人粪便好氧堆肥过程及微生物群落演替的影响

时红蕾¹, 王晓昌¹, 李倩¹, 刘源²

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055; 2. 中建一局华江建设有限公司, 北京 100161)

摘要: 以人粪便和锯末为实验材料, 研究了四环素(TC)对好氧堆肥过程中理化性质、酶活性以及微生物群落演替的影响. 实验共设 4 个处理: CK(不添加 TC)、TC100(100 mg·kg⁻¹ TC)、TC250(250 mg·kg⁻¹ TC)和 TC500(500 mg·kg⁻¹ TC). 采用高通量 16S rRNA 基因测序技术对堆肥中微生物群落结构进行分析. 结果表明, TC 对堆肥理化性质的影响与其浓度有关, 堆肥中 TC 浓度的增加显著抑制了堆肥温度的升高, 增加了水溶性碳(WSC)的残留, 降低了种子发芽率(GI)并抑制了脱氢酶活性(DHA). 堆肥温度、WSC、GI 和 DHA 等堆肥参数都可以用来表征堆肥的腐熟度, 以上结果表明堆肥中 TC 浓度高达 500 mg·kg⁻¹时, TC 阻碍了人粪便好氧堆肥过程并影响堆肥产物的腐熟. 而且, TC 浓度的增加显著改变了堆肥中的微生物群落演替, 降低了微生物的多样性和丰度. TC 对堆肥过程和堆肥产物腐熟的主要不利影响是对微生物群落结构的干扰和对生物活性的抑制.

关键词: 四环素; 好氧堆肥; 人粪便; 微生物群落; 堆肥腐熟

中图分类号: X172; X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)06-2810-09 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201711043

Effects of Elevated Tetracycline Concentrations on Aerobic Composting of Human Feces: Composting Behavior and Microbial Community Succession

SHI Hong-lei¹, WANG Xiao-chang¹, LI Qian¹, LIU Yuan²

(1. Key Laboratory of Northwest Water Resources, Environment and Ecology, Ministry of Education, School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. Huajiang Construction Company Limited of China Construction First Group, Beijing 100161, China)

Abstract: In order to investigate the effect of antibiotics on composting behavior, enzymatic activity, and microbial community succession during the aerobic composting of human feces using sawdust as the bulk carrier, tetracycline (TC) was added to the composting system at four different concentrations (0, 100, 250, and 500 mg·kg⁻¹). Microbial community succession was examined by high-throughput 16S rRNA gene sequencing. The results showed that the influence of TC on the physical and chemical properties of compost was related to its concentration. With the increase in TC concentration, the temperature increase during aerobic composting was inhibited, the water-soluble carbon (WSC) residue was increased, the germination index (GI) was decreased, and the dehydrogenase activity (DHA) was also hindered. Parameters, such as temperature, WSC, GI, and DHA, are widely accepted and representative indicators to evaluate compost maturity. Overall, when the concentration of TC was higher than 500 mg·kg⁻¹, the aerobic composting process and the maturity of the final compost were inhibited. Furthermore, elevated TC caused significant changes in microbial community succession and reductions in community diversity and abundance. Therefore, interference in microbial community structures and a hindrance to biological activity are believed to be the main adverse effects of TC on the composting process and maturity of the composting products.

Key words: tetracycline; aerobic composting; human feces; microbial community; compost maturity

目前在中国北方农村或缺水地区, 传统的旱厕一直是主要的人体粪便卫生处理和储存方式^[1]. 然而这种方式对环境与公共健康而言, 存在大量不利影响, 比如容易污染地下水和引起肠胃疾病^[2]. 在缺水地区, 水冲厕所的推广是困难的, 而堆肥厕所是一项以好氧堆肥为基础的人粪便卫生处理技术, 被视为是最佳的替代技术^[3]. 由于好氧堆肥处理粪便(堆肥厕所)不需要基础设施并可以廉价引进, 它的应用正变得越来越商业化, 特别有助于农村地区、自然公园和缺水地区卫生的改善^[4, 5]. 好氧堆

肥在处理粪便的同时, 可得到含有丰富营养物质如氮磷钾的堆肥产品, 可用作肥料和土壤调理剂. 人粪便通常含有高浓度的激素和抗生素药物残留, 因此为避免二次污染, 粪便堆肥产品的安全性需要引起人们的重视.

收稿日期: 2017-11-05; 修订日期: 2017-12-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(2010116062); 西安建筑科技大学青年自然科学基金项目(qn1615); 陕西省污水处理与资源化重点科技创新团队项目(PIRT 2013KCT-13)

作者简介: 时红蕾(1987~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为固体废物处理以及资源回收利用, E-mail: 717305120@qq.com

抗生素广泛应用于人类疾病的预防和治疗^[6]。然而由于其生物利用率低, 30% ~ 90% 的抗生素不能在人体内代谢和降解, 以原药的形式随粪便和尿液排出体外, 其中一些仍具有生物活性^[6, 7]。好氧堆肥是粪便无害化处理和资源化利用的主要途径之一, 也是一种可行和有效的抗生素去除技术^[8~10]。四环素、喹诺酮和磺胺类抗生素等是人大量频繁使用的药物, 它们的最大日剂量能达到 $6\text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$, 并且排泄率最高可达 90%^[11]。大量残留抗生素可以随人粪便进入堆肥反应器, 因此在堆肥时抗生素的残留是否会影响堆肥过程应进行考察。关于不同抗生素对堆肥过程影响的研究主要集中在对堆肥温度、pH、C/N 和 TOC 等堆肥物化参数的影响^[12, 13]。针对抗生素对堆肥中微生物群落变化的研究较少且主要集中在堆肥过程中细菌、真菌和抗药性细菌等菌群数量的研究方面, 研究方法主要为传统培养法和碳素利用法^[14~16]。四环素是一种人常用抗生素^[17], 了解其对堆肥过程的影响是非常必要的, 但直到现在还未发现相关的研究。此外, 以往的研究中抗生素浓度往往小于 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 因此, 较高

浓度的抗生素对小规模的家庭堆肥过程的影响也应进一步了解。

在本研究中, 四环素以不同浓度被加标到人粪便和锯末的堆肥原料中, 利用高通量测序方法分析堆肥中的微生物群落结构变化, 主要目的是调查四环素对以家庭规模堆肥为基础的人粪便好氧堆肥过程及微生物群落演替的影响, 揭示堆肥过程中的微生物演变规律, 以期含抗生素粪便堆肥无害化处理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

标准品四环素盐酸盐 (Tetracycline, TC, 纯度 $\geq 97.5\%$) 购自 Sigma-Aldrich 公司。堆肥原料由人粪便和锯末组成。实验所用粪便取自校内某学生公寓, 其中四环素浓度低于检测限。人粪便收集处理后分装, 置于 -20°C 的冰箱中保存。作为空白载体和调理剂的锯末, 由西安市某木材加工厂提供, 筛选出粒径 1 ~ 2 mm 的锯末。人粪便和锯末的理化性质如表 1 所示。

表 1 人粪便和锯末的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the human feces and sawdust used in this study					
堆肥原料	含水率/%	水溶性碳/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	总有机碳/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	总氮/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	C/N
人粪便	82.29	441.33	507.64	57.10	8.89
锯末	12.11	29.39	379.11	1.52	249.41

1.2 实验设计

本研究采用的实验装置如图 1 所示。该反应器由 2 层柱状有机玻璃构成, 体积为 25 L。为了维持好氧环境, 在每个反应器底部建立一个 5 cm 高的气室, 用金属支撑材料。在材料上打小孔既不使堆肥样品漏下又可保持通风环境。空气通过气泵进入气室, 通气量为 $1.5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。反应器顶部加盖并在盖上钻孔以保持通风并可减少水分流失。反应器外层加保温材料。

初始人粪便和锯末按照 1:2.5 (基于干重) 进行混合, 每个堆肥反应器中加入 0.3 kg 人粪便和 0.75 kg 的锯末 (均为干重), 调节 C:N 为 24:1。在整个堆肥过程中, 含水率维持在 60% 左右。四环素作为治疗药物, 成人日剂量为 1 ~ 2 g, 并且排泄率为 80% ~ 90%^[11]。单独的商业用家庭堆肥装置的反应器中装有 4 kg 锯末^[8], 以一个病人每天四环素的最高日剂量 (2 g) 和排泄率 (90%) 计算, 堆肥反应器中四环素的浓度能达到 $450\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 随着

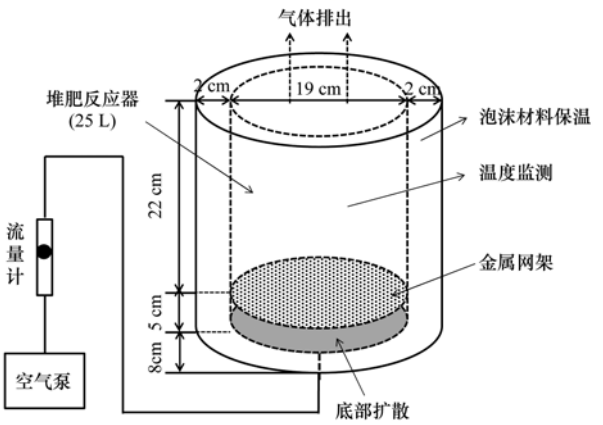


图 1 堆肥反应器结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the ecological composting reactor

人粪便的增加, 堆肥反应器中四环素浓度进一步提高。值得注意的是在中国抗生素滥用现象非常严重, 更多的抗生素也可以通过食物链进入人体^[18]。根据 TC 的添加浓度, 堆肥实验共设 4 个处理: CK (不添加 TC)、TC100 ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ DW TC}$)、

TC250(250 mg·kg⁻¹ DW TC)、TC500(500 mg·kg⁻¹ DW TC)。堆肥实验在室温 28℃ 的环境中进行。每个处理重复 3 次。

在 21 d 的堆肥中每天 2 次对堆料搅拌混匀。每天定时采集搅拌混匀的样品。将采集的样品分为两部分,一份存于 4℃ 冰箱,用于化学分析和酶活性测定;另一份保存于 -80℃,用于分子生物学分析。取堆肥第 2 d(升温期)、6 d(降温期)、21 d(腐熟期)的样品用于微生物群落分析。4 种不同堆肥处理在堆肥温度变化的 3 个阶段(升温期、降温期、腐熟期)被标记为 CK-1、CK-2、CK-3、TC100-1、TC100-2、TC100-3、TC250-1、TC250-2、TC250-3、TC500-1、TC500-2 和 TC500-3。

1.3 理化参数分析方法

4 种不同堆肥处理中的堆体温度每天监测 2 次,在堆体的上层、中层、下层测定,以平均值作为当天堆体温度。样品含水率用烘干法测定。其他堆肥参数如 pH、水溶性碳(WSC)、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和种子发芽率(GI)的测定方法参照文献[12]中描述的方法。每次测定均设 3 次平行实验,取平均值,最大误差限 <5%。

1.4 脱氢酶活性(DHA)测定

DHA 的测定通过还原氯化三苯四唑(TTC)到三苯基甲月替(TPF)得到,方法可参考 Feng 等的研究^[19]。简单来说,2 g 样品与 2 mL 1% TTC 溶液(溶解到 0.5 mol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液, pH = 7.6)和 2 mL 去离子水混合,在 37℃ 的黑暗环境中培养 6 h。随后样品与 100 mL 甲醇混合提取 TPF, 150 r·min⁻¹ (20℃)离心 1 h,取有机溶剂层在 485 nm 比色。不添加 TTC 作为对照。DHA 以 mg·(g·h)⁻¹ (以 TPF 计)表示。

1.5 微生物分析

1.5.1 样品处理及 DNA 提取

称取 200 mg 的样品,放入灭菌的 2 mL 离心管中,加入 1 mL 70% 乙醇,振荡混匀,10 000 r·min⁻¹ 室温离心 3 min,弃置上层液体。加入 1 × PBS 溶液,振荡混匀,10 000 r·min⁻¹ 室温离心 3 min,弃置上层液体。倒置 2 mL 管于吸水纸上 1 min,直至没有液体流出。将样品管放入 55℃ 烘箱 10 min,使残留酒精完全挥发,保证后续实验操作。具体 DNA 提取步骤参照 OMEGA 试剂盒(E. Z. N. ATM Mag-Bind Soil DNA Kit, USA)的说明。DNA 提取后,用琼脂糖凝胶检测 DNA 完整性。

1.5.2 PCR 扩增

利用 Qubit2.0 DNA 检测试剂盒对基因组 DNA 精确定量,以确定 PCR 反应应加入的 DNA 量。PCR 所用的引物融合了 MiSeq 测序平台的 V3-V4 通用引物(融合 341F 引物:CCCTACACGACGCTCTTCCGATCTG(barcode)CCTACGGGNGGCWGCAG,融合 805R 引物:GACTGGAGTTCCTTGGCACCCGA GAATTCCAGACTACHVGGGTATCTAATCC)。PCR 反应体系为:微生物 DNA(10 ng·μL⁻¹)2 μL;正向引物(10 μmol·L⁻¹)1 μL;反向引物(10 μmol·L⁻¹)1 μL;2 × Taq master Mix 15 μL,补无菌 Mili-Q 水至 30 μL。

扩增条件为:94℃ 预变性 3 min, 94℃ 变性 30 s, 45℃ 退火 20 s, 65℃ 延伸 30 s, 重复 5 个循环; 94℃ 变性 20 s, 55℃ 退火 20 s, 72℃ 延伸 30 s, 重复 20 个循环;引入 Illumina 桥式 PCR 兼容引物, 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 15 s, 55℃ 退火 15 s, 72℃ 延伸 30 s, 重复 5 个循环,最后 72℃ 保温 5 min。PCR 结束后,使用 1% 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。纯化回收所需的 PCR 产物,利用 Qubit 2.0 DNA 检测试剂盒对回收的 DNA 精确定量。

1.5.3 测序结果处理

利用 Illumina MiSeq 平台进行微生物高通量分析测定。测序数据采用 Flash 软件融合双末端序列,而后通过各样品 barcode 使数据回归样品,并对各样本序列做质量控制。去除非靶区域序列及嵌合体。采用 RDP classifier 将序列进行物种分类,对每个样本和每个物种单元分类进行序列丰度计算,构建样本和物种分类单元序列丰度矩阵。将多条序列根据其序列之间的距离来对它们进行聚类,并将相似性大于 0.97 的序列定义为一个操作分类单元(OUT)。最后计算各种物种多样性指数,衡量样本物种多样性。

1.6 数据处理与分析

数据的统计分析采用 Microsoft Excel 2016 进行处理和制图,采用 SPSS Statistic 19.0 软件进行统计分析。利用单因素方差分析法(ANOVA)进行不同样品差异显著性检验,差异显著性水平为 0.05。

2 结果与讨论

2.1 堆肥温度变化

温度是影响好氧堆肥进程的主要因素,它反映了堆肥过程中微生物活性的变化,是堆肥无害化的

主要标志之一. 对家庭尺度堆肥来说, 由于其规模小散热严重, 因此堆肥过程中很难维持较高的温度^[20]. 4 种不同堆肥处理的温度变化如图 2 所示, 变化过程可分为升温期、降温期和腐熟期这 3 个阶段. CK、TC100、TC250 和 TC500 处理都在堆肥的第 3 d 达到最高温度, 分别为 55.6、50.5、48.2 和 45.3℃. 不管是在堆肥升温期还是降温期, CK 处理的堆肥温度明显高于其他处理, 表明高的 TC 浓度对微生物群落的代谢能力有抑制影响^[21]. 在堆肥后期, 所有处理达到一个相对稳定的温度并接近室温. 此时 CK 和 TC100 处理的堆肥温度低于 TC250 及 TC500 处理的温度, 可能是随着堆肥时间的增加, 堆肥环境会产生抗性种群^[21], 增加了堆料中微生物的代谢活性^[8], 不同代谢活动产生的热量使各个处理的温度变化不一致.

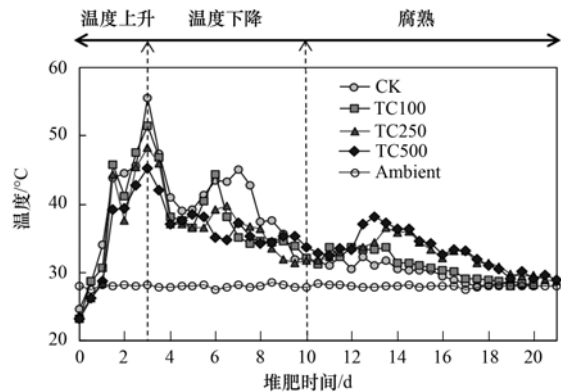


图 2 堆肥过程中温度的变化
Fig. 2 Variation of temperature in composting

2.2 TC 对堆肥腐熟的影响

判定堆肥无害化过程及达到稳定化的标准为腐熟度^[3], 这可反映生物化学稳定度及有机物降解情况, 是堆肥产品的质量指标. 种子发芽实验是测定堆肥生理毒性和腐熟度大小的一种直接又快速的方法. 有研究指出, 当 GI 大于 80% 时, 就可以判定堆肥腐熟, 其毒性被认为已降解至植物能忍耐的水平^[22]. 由表 2 可知, CK 处理最先满足这个条件, 它的最终 GI 值为 145.8%, 紧跟着为 TC100 (116.2%)、TC250 (95.5%) 和 TC500 (80.2%). Bernai 等^[23]的研究中用 WSC 含量来评价堆肥的腐熟, 其含量标准是不高于 17 g·kg⁻¹. 4 种不同堆肥处理中 WSC 的变化趋势与温度的变化是相似的, 堆肥结束时, CK 处理的 WSC 含量最低 (14.39 g·kg⁻¹), 紧接着分别为 TC100 (15.83 g·kg⁻¹)、TC250 (20.46 g·kg⁻¹) 和 TC500 (25.07 g·kg⁻¹). CK 和 TC100 处理的 WSC 含量明显低于 17 g·kg⁻¹ 的标准. 评价堆肥腐熟度的标准较多, 但至今仍未有权威性的定论, 当其单独作为评价腐熟度标准时, 几乎所有的参数都存在不完善之处. 对堆肥腐熟度的评价一般结合了物理学、化学和生物学指标包括堆肥温度、pH、WSC、GI 和微生物活性等可被广泛接受的指标. 总体而言通过以上的研究发现堆肥中高浓度的抗生素的加入延缓了堆肥的腐熟, TC 浓度高达 500 mg·kg⁻¹ 时, TC 阻碍了人粪便好氧堆肥过程并影响堆肥产物的腐熟.

表 2 4 种不同堆肥处理中物化参数在堆肥升温、降温和腐熟阶段的变化¹⁾
Table 2 Changes in physicochemical parameters for composting treatments

样品	温度 /℃	pH	WSC /g·kg ⁻¹	GI /%	NH ₄ ⁺ -N /g·kg ⁻¹	NO ₃ ⁻ -N /g·kg ⁻¹	DHA(以 TPF 计) /mg·(g·h) ⁻¹
堆肥原料	23.5	5.89	85.46 ± 1.23	27.69 ± 2.52	7.85 ± 0.86	2.52 ± 0.12	12.97 ± 1.01
CK-1	44.5	6.87	99.72 ± 3.23	25.46 ± 2.45	12.23 ± 1.85	2.35 ± 0.12	10.25 ± 0.68
CK-2	43.5	7.51	39.71 ± 2.15	79.27 ± 3.77	9.07 ± 1.27	1.77 ± 0.11	7.88 ± 0.56
CK-3	28.0	7.17	14.39 ± 0.27	145.76 ± 5.85	1.73 ± 0.16	0.94 ± 0.07	6.29 ± 0.46
TC100-1	41.1	7.21	101.06 ± 4.47	22.69 ± 2.31	13.44 ± 1.56	2.39 ± 0.17	10.86 ± 0.78
TC100-2	44.4	7.85	43.51 ± 1.78	69.33 ± 4.17	10.19 ± 0.99	1.85 ± 0.11	7.07 ± 0.41
TC100-3	28.2	7.45	15.83 ± 0.29	116.21 ± 3.97	1.78 ± 0.09	1.02 ± 0.05	5.38 ± 0.64
TC250-1	37.7	7.14	87.14 ± 2.74	13.13 ± 1.11	11.98 ± 1.11	2.56 ± 0.11	7.14 ± 0.35
TC250-2	39.2	7.72	49.22 ± 3.46	60.61 ± 3.86	8.71 ± 0.77	1.89 ± 0.13	10.02 ± 0.71
TC250-3	28.7	7.51	20.46 ± 0.31	95.54 ± 4.14	1.86 ± 0.15	1.11 ± 0.08	4.55 ± 0.32
TC500-1	39.4	7.28	79.53 ± 2.78	10.04 ± 1.09	11.15 ± 1.38	2.62 ± 0.05	6.94 ± 0.45
TC500-2	35.2	7.85	50.38 ± 1.95	45.22 ± 3.20	8.84 ± 0.72	1.93 ± 0.06	4.96 ± 0.37
TC500-3	28.5	7.48	25.07 ± 0.24	80.22 ± 2.88	1.91 ± 0.35	1.15 ± 0.06	3.13 ± 0.15

1) 样品中的 1, 2, 3 分别代表堆肥的温度上升、温度下降和腐熟阶段, 下同

2.3 脱氢酶活性分析

DHA 能直接反映生物细胞对基质降解能力的

强弱, 是表征微生物的活性和功能多样性的重要指标, 并可为堆肥的腐熟提供信息^[24]. 由图 3 可知,

不同处理的最高 DHA (以 TPF 计) 分别为 CK [12.96 $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$]、TC100 [14.04 $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$]、TC250 [11.67 $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$] 和 TC500 [8.69 $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$]。堆肥初期 DHA 的快速增加是由能被脱氢酶催化影响的不稳定的有机物的氧化反应引起的^[24]。在堆肥的初始阶段, TC100 处理的 DHA 高于 CK 处理, 表明堆肥过程中低浓度 (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的 TC 促进了脱氢酶的活性, 这可能是由于抗生素的毒物兴奋效应 (hormesis)^[25]。堆肥中残留的抗生素通过影响微生物的活性和数量, 进而影响微生物分泌酶的能力及酶活性大小。Wei 等的研究发现^[25], 向土壤施加 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的四环素, 促进了土壤中细菌菌落和真菌群落的增加及活性。与其他处理相比, TC500 处理的 DHA 是明显低的, 可能是因为高浓度抗生素抑制了微生物数量生长及微生物活性。堆肥中高浓度的 TC 对 DHA 的抑制从而导致了有机物分解的抑制。在堆肥腐熟阶段, DHA 降低, 这意味着大部分的有机物已被微生物降解并转换成一个稳定的物质, 呼吸过程减慢^[26]。

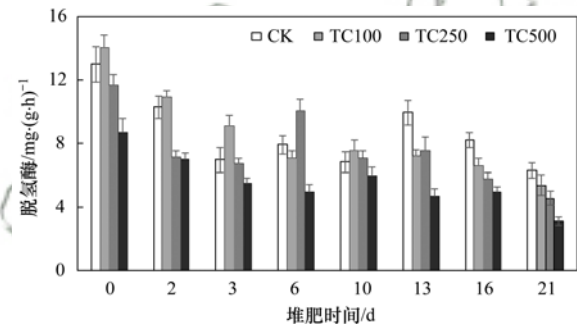


图3 不同堆肥处理中脱氢酶活性变化

Fig. 3 Changes in activities of dehydrogenase during human feces aerobic composting with different treatments

2.4 微生物群落变化

2.4.1 测序结果及微生物多样性

不同堆肥处理微生物群落多样性测定结果如表3所示, 13个堆肥样品中获得356 794个有效序列。通过聚类分析, 在相似度为97%水平下共得到7 813个 OTUs。全部堆肥样品的文库覆盖率均高于0.987, 满足对微生物多样性要求。为了反映群落内的物种多样性, 计算了包括香农和辛普森多样性指数在内的 α 多样性指数。 α 多样性指数可用来评价堆肥中微生物丰富度和群落均匀度, 香农指数值越大, 辛普森指数值越小, 表明微生物均匀度越高^[27]。比较不同堆肥处理的香农指数和辛普森多样性指数可知, TC100 处理的两种多样性指数相对

较高, 这可能是由于四环素的“毒物兴奋效应”促进了微生物群落的活性和多样性^[28]。在堆肥腐熟阶段, TC500 处理的香农和辛普森指数低于其他3个处理。此外, 随着TC添加浓度的升高, 微生物群落的多样性指数逐渐下降, 这可能是由于一些微生物对高浓度抗生素的敏感性, 从而抑制了微生物的数量和活性^[29]。

表3 不同堆肥处理的微生物群落多样性

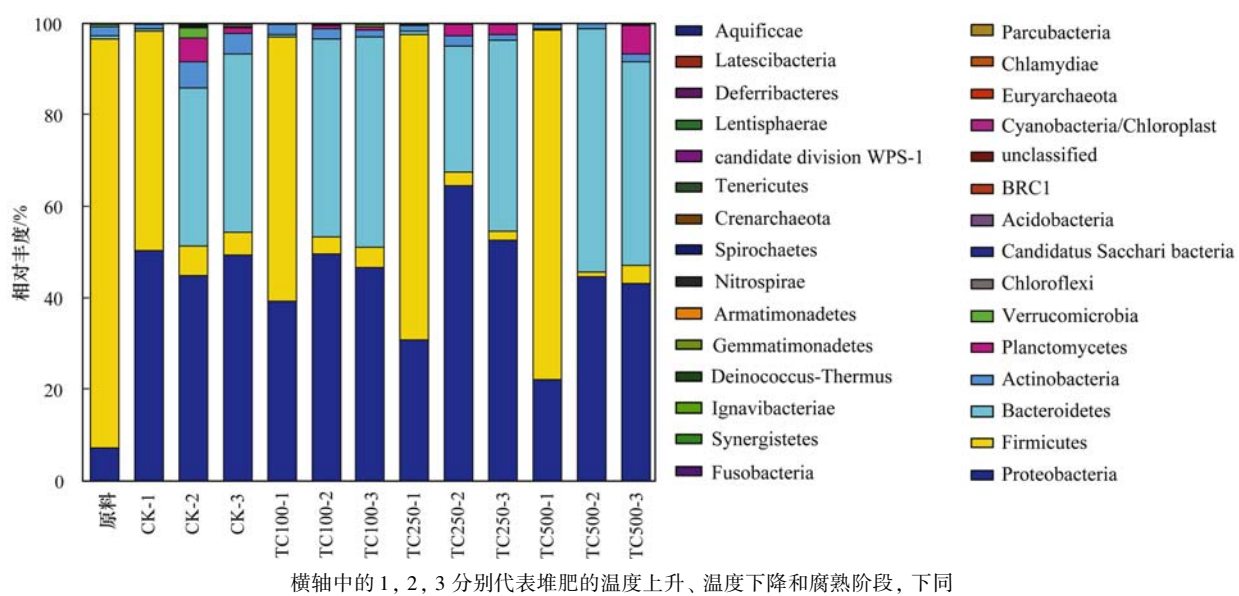
Table 3 Diversity (Shannon and Simpson) and sequencing depth (coverage) indexes for the bacterial community in each sample

样品	序列数	OTU	香农指数	辛普森指数	覆盖率
原料	26723	580	2.82	0.154	0.990
CK-1	26844	406	2.10	0.279	0.992
CK-2	29729	902	4.20	0.033	0.988
CK-3	23812	692	4.05	0.043	0.987
TC100-1	25218	528	2.93	0.162	0.990
TC100-2	28726	590	3.65	0.057	0.991
TC100-3	30605	748	3.91	0.040	0.989
TC250-1	32198	701	2.69	0.169	0.992
TC250-2	32345	599	3.69	0.047	0.990
TC250-3	22249	493	3.67	0.060	0.989
TC500-1	30061	570	2.71	0.163	0.990
TC500-2	25950	441	2.97	0.129	0.992
TC500-3	22334	563	3.12	0.118	0.988

2.4.2 微生物群落演替

通过比较高通量测序获得的细菌16S rRNA基因的组成和结构, 分析了堆肥过程中细菌群落的组成变化。不同堆肥处理的细菌群落所占丰度在门水平上均发生了显著变化, 如图4所示。众所周知, 堆肥过程会影响细菌种群及数量^[30], 但暴露于高浓度的TC环境会导致堆肥微生物群落组成发生重大变化。

Mothur 分类结果显示各处理样品中的主要菌群为变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和放线菌门 (Actinobacteria), 有研究报道这4种主要的菌群是粪便堆肥中的优势门类^[31, 32]。在人类粪便和锯末的堆肥原料中, 厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 所占丰度分别为87.3%、7.3%、1.9%和0.6%。随着堆肥的进行, 在堆肥升温阶段, 变形菌门 (Proteobacteria) 的数量显著增加, 厚壁菌门 (Firmicutes) 和变形菌门 (Proteobacteria) 成为优势菌种, 占有细菌16S rRNA基因序列总数的88.0%~94.4%。与CK处理相比, 添加TC的堆肥处理中, 变形菌门



横轴中的 1, 2, 3 分别代表堆肥的温度上升、温度下降和腐熟阶段, 下同

图 4 不同堆肥处理中细菌在门水平上的相对丰度

Fig. 4 Bacterial community evolution during the aerobic composting of human feces at the phylum level

(Proteobacteria) 的丰度随 TC 浓度的升高而减小, 这可能是因为变形菌门 (Proteobacteria) 的耐热性低于厚壁菌门 (Firmicutes)^[33]. 在堆肥的温度下降和腐熟阶段, 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的丰度明显增大, 并和变形菌门 (Proteobacteria) 共同成为优势菌种. Takaku 等^[30] 的研究中也报道了拟杆菌门 (Bacteroidetes) 微生物大量存在于堆肥的中后期. 在堆肥中, 放线菌门 (Actinobacteria) 数量的变化可以评价堆肥的腐熟度^[32]. 在 CK 处理中, 放线菌门 (Actinobacteria) 的丰度从 0.3% (升温阶段) 显著增加到 5.9% (降温阶段). 然而在添加 TC 的堆肥处理中, 放线菌门 (Actinobacteria) 的丰度明显低于 CK 处理. 因此, 堆肥中的 TC 影响了细菌群落的丰度, 这些发现与文献[34]的研究结果相似.

图 5 是在微生物的种水平下的物种丰度热图, 用物种丰度矩阵绘制. 其中每一列代表一个样本, 行代表菌群, 颜色块代表相对物种丰度值, 颜色越红表示相对丰度越高, 颜色越蓝反之. 分析结果显示堆肥的升温、降温和腐熟阶段的各处理聚为一类, 堆肥降温和腐熟阶段的微生物群落物种组成及其相对丰度更相似, 与堆肥升温阶段的相似性较低. 典型的粪便病原体大肠杆菌/志贺氏菌 (*Escherichia/Shigella*) 是 CK 处理堆肥初期的主要菌种, 占细菌总数的 47.15%. 在 TC 处理中, 大肠杆菌/志贺氏菌 (*Escherichia/Shigella*) 的丰度随 TC 浓度的增加而显著减少, 而芽孢杆菌 (*Bacillus*) 的丰度增加, 成为了升温阶段的主要属. 芽孢杆菌

(*Bacillus*) 是一种在粪便堆肥中属于厚壁菌门 (Firmicutes) 的常见属^[30], 存在于堆肥的不同阶段, 具有纤维素分解能力^[35], 并可产生蛋白酶、几丁质酶和多种纤维素酶^[36], 在 TC500 处理的升温阶段占总数的 46.41%. 在堆肥温度下降阶段的优势物种主要为鞘氨醇杆菌属 (*Sphingobacterium*)、*Moheibacter*、香味菌属 (*Myroides*) 和嗜油极小单胞菌 (*Pusillimonas*). 鞘氨醇杆菌属 (*Sphingobacterium*) 属于鞘脂杆菌目 (Sphingobacteriales), 在不同堆肥处理的中后期均是优势属, 尤其是在 CK 处理中. *Moheibacter* 和香味菌属 (*Myroides*) 都属于黄杆菌目 (Flavobacteriales), 在 TC100 和 TC500 处理的温度下降阶段是优势菌属. 有研究报道拟杆菌门 (Bacteroidetes) 能有效降解堆肥中的大分子有机物^[34], 属于拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的 *Flavobacterium* 属可降解碳氢化合物^[37], 因此拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的细菌对于堆肥有机物的去除具有重要作用. 嗜油极小单胞菌 (*Pusillimonas*) 属于产酸菌科 (Alcaligenaceae), 能利用堆肥中的有机酸并产生碱^[38], 它可能有助于提高堆肥中的 pH 和维持碱性环境. 在堆肥处理的腐熟阶段, 嗜温微生物大量繁殖, 优势菌属种类增加, 表明了物种多样性的扩增^[33]. 在堆肥腐熟阶段, TC 处理中细菌群落结构和优势菌属的相似性低于 CK 处理.

2.4.3 堆肥物化参数变化与细菌群落结构变化冗余分析

堆肥中微生物的优势种属的变化除了受 TC 浓

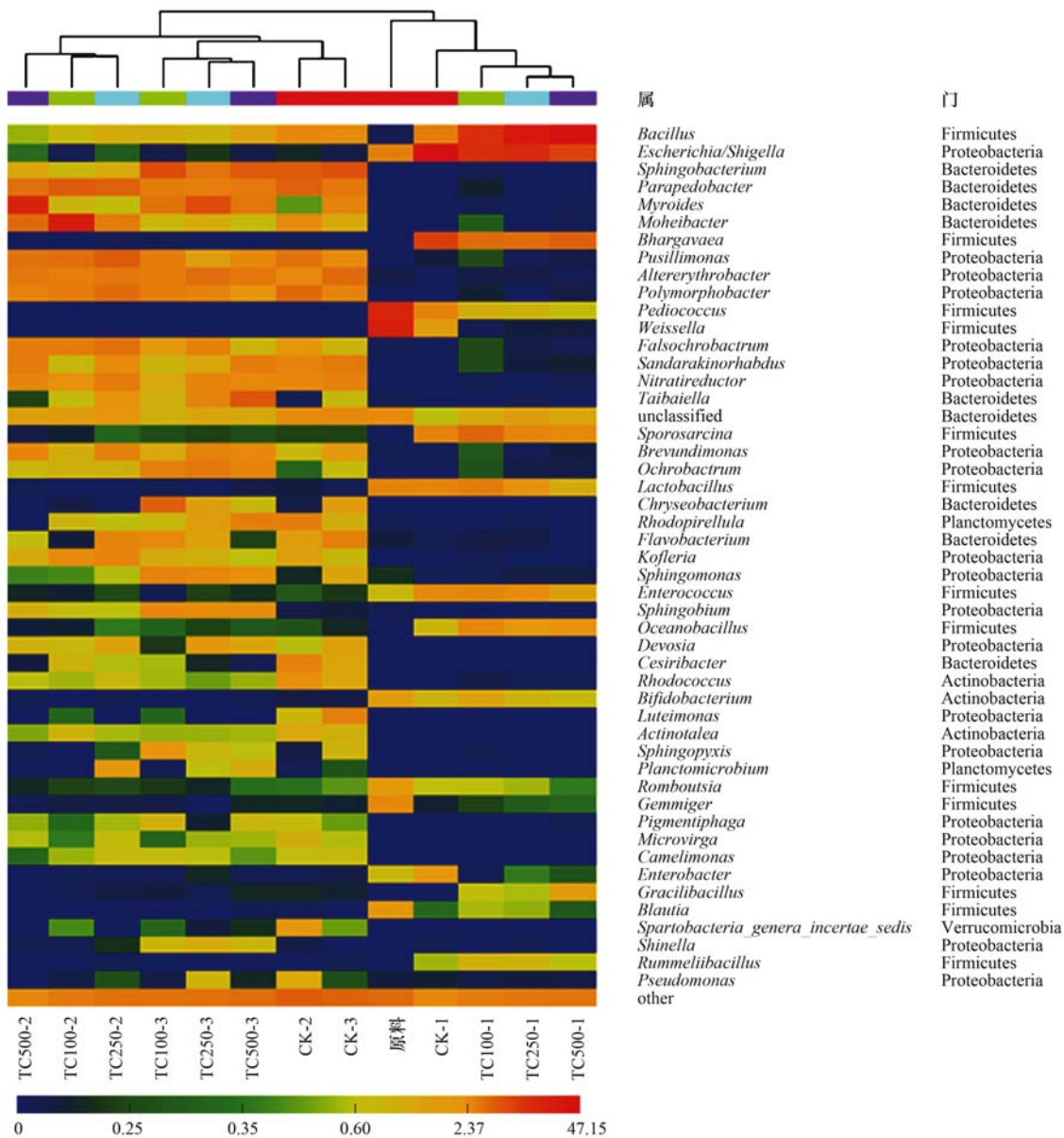


图 5 不同堆肥处理中微生物物种丰度热图

Fig. 5 Heatmap of species relative abundance at the genus level in compost samples

度影响外，堆肥过程中的堆体理化参数变化也会驱动堆体中微生物群落结构发生改变^[28]。冗余分析(RDA)是基于排序技术的线性分析方法，不仅可以结合多个环境因子一起分析，而且能够独立保持每一个环境因子对物种变化的贡献率^[39]。为了清晰地了解堆肥过程物化特性与微生物群落结构变化之间的关系，进行 RDA 分析，结果如图 6 所示。研究结果显示细菌群落在堆肥温度上升阶段变化迅速，但在堆肥后两个阶段变化较小。总体而言，细菌群落结构在堆肥温度下降后趋于稳定，这也证实了聚类分析的结果。堆肥过程中的堆肥温度、pH、

WSC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、DHA 和种子发芽率(GI)的变化总结于表 2 中。在选择的 7 个参数中，堆肥温度、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 GI 与第一轴正相关($P < 0.05$)，pH 和 DHA 与第二轴正相关($P < 0.05$)。以上堆肥参数显著影响堆肥中细菌群落结构的变化，其他研究也有过相似发现^[32, 40]。相比其他堆肥参数， $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 WSC 对堆肥中细菌群落组成的变化影响较小，但并不意味着 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 WSC 对细菌群落组成的影响不重要。氮素和碳素都是细菌生长的基本营养元素^[3]，其中 WSC 积极参与碳循环，是细菌生长和活动的直接前体，直接驱动其分解过程。

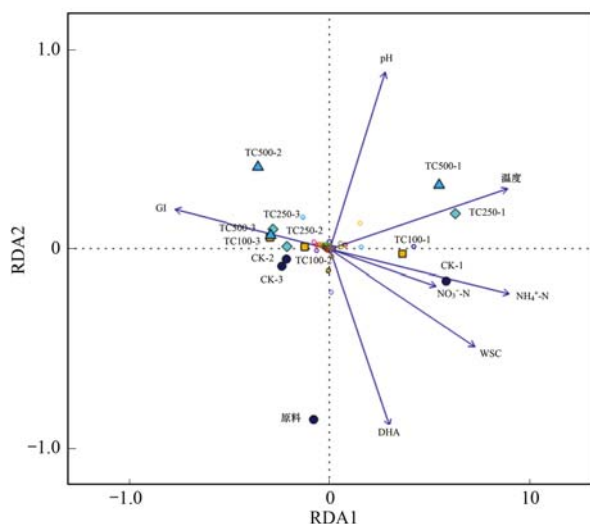


图6 堆肥中细菌群落与物化参数关系的冗余分析

Fig. 6 Redundancy analysis of the relationships between bacterial community (OTU abundance at 3% cutoff level) and the physiochemical attributes of composting samples

3 结论

(1) 本文以 TC 为例, 调查抗生素残留对人粪便好氧堆肥的影响, 得到 TC 对人粪便堆肥理化性质的影响与其浓度有关。堆肥中 TC 浓度的增加显著抑制了堆料中温度的升高, 增加了 WSC 的残留, 减少了 GI。四环素浓度越高 ($500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 越会对堆肥过程产生显著抑制作用。

(2) 不同浓度 TC 对堆肥中脱氢酶活性的影响表现出差异, 通过脱氢酶活性变化趋势分析, 低浓度 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的 TC 可促进脱氢酶活性, 而 TC 浓度的升高抑制了堆料中脱氢酶的活性, 导致了生物活性的改变或降低。

(3) 堆肥温度、pH、WSC、GI 和 DHA 等指标都可以用来表征堆肥的腐熟度。研究结果表明堆肥中 TC 浓度高达 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, TC 阻碍了好氧堆肥过程并影响堆肥产物的腐熟。

(4) 堆肥中 TC 浓度的增加显著改变了微生物群落演替, 限制了某些微生物属的生长, 从而影响了微生物的多样性和丰度。高浓度 TC 对微生物群落结构的干扰和对生物活性的抑制导致了堆肥腐熟的延迟。

参考文献:

- [1] Gao H, Zhou C B, Li F, *et al.* Economic and environmental analysis of five Chinese rural toilet technologies based on the economic input-output life cycle assessment [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2017, **163**(S): S379-S391.
- [2] Jenkins M W, Cumming O, Cairncross S. Pit latrine emptying behavior and demand for sanitation services in Dar Es Salaam, Tanzania [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2015, **12**(3): 2588-2611.
- [3] Bernal M P, Albuquerque J A, Moral R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review [J]. *Bioresource Technology*, 2009, **100**(22): 5444-5453.
- [4] Kazama S, Tameike N, Nakagawa N, *et al.* A fate model of pathogenic viruses in a composting toilet based on coliphage inactivation [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, **23**(7): 1194-1198.
- [5] Lopez Zavala M A, Funamizu N, Takakuwa T. Modeling of aerobic biodegradation of feces using sawdust as a matrix [J]. *Water Research*, 2004, **38**(5): 1327-1339.
- [6] Du L F, Liu W K. Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review [J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2012, **32**(2): 309-327.
- [7] Heberer T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data [J]. *Toxicology Letters*, 2002, **131**(1-2): 5-17.
- [8] Kakimoto T, Osawa T, Funamizu N. Antibiotic effect of amoxicillin on the feces composting process and reactivation of bacteria by intermittent feeding of feces [J]. *Bioresource Technology*, 2007, **98**(18): 3555-3560.
- [9] Wu X F, Wei Y S, Zheng J X, *et al.* The behavior of tetracyclines and their degradation products during swine manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**(10): 5924-5931.
- [10] Shi H L, Wang X C, Li Q, *et al.* Degradation of typical antibiotics during human feces aerobic composting under different temperatures [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, **23**(15): 15076-15087.
- [11] Hirsch R, Ternes T, Haberer K, *et al.* Occurrence of antibiotics in the aquatic environment [J]. *Science of the Total Environment*, 1999, **225**(1-2): 109-118.
- [12] 王桂珍, 李兆君, 张树清, 等. 土霉素在鸡粪好氧堆肥过程中的降解及其对相关参数的影响 [J]. *环境科学*, 2013, **34**(2): 795-803.
- [13] Wang G Z, Li Z J, Zhang S Q, *et al.* Degradation of oxytetracycline in chicken feces aerobic-composting and its effects on their related parameters [J]. *Environmental Science*, 2013, **34**(2): 795-803.
- [14] 郭梦婷, 邓友华, 冯小晏, 等. 土霉素残留对猪粪堆肥过程中理化性质的影响 [J]. *环境污染与防治*, 2012, **34**(2): 50-54.
- [15] Guo M T, Deng Y H, Feng X Y, *et al.* Effects of residual oxytetracycline on the physical and chemical properties of pig manure during composting [J]. *Environmental Pollution and Control*, 2012, **34**(2): 50-54.
- [16] 沈颖, 魏源送, 郑嘉嘉, 等. 猪粪中四环素类抗生素残留物的生物降解 [J]. *过程工程学报*, 2009, **9**(5): 962-968.
- [17] Shen Y, Wei Y S, Zheng J X, *et al.* Biodegradation of tetracycline antibiotics residues in swine manure [J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2009, **9**(5): 962-968.
- [18] Qian X, Sun W, Gu J, *et al.* Variable effects of oxytetracycline on antibiotic resistance gene abundance and the bacterial community during aerobic composting of cow manure [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, **315**: 61-69.

- [16] 张凯煜, 谷洁, 赵昕, 等. 土霉素和磺胺二甲嘧啶对堆肥过程中酶活性及微生物群落功能多样性的影响[J]. 环境科学学报, 2015, **35**(12): 3927-3936.
Zhang K Y, Gu J, Zhao T, *et al.* Effects of OTC and SM₂ on the enzyme activities and the functional diversity of microbial community during pig manure composting[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, **35**(12): 3927-3936.
- [17] 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[J]. *Chemosphere*, 2006, **65**(5): 725-759.
- [18] Carman R J, Simon M A, Petzold III H E, *et al.* Antibiotics in the human food chain: establishing no effect levels of tetracycline, neomycin, and erythromycin using a chemostat model of the human colonic microflora[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2005, **43**(2): 168-180.
- [19] Feng L J, Zhang L Q, Feng L. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil amended with sewage sludge compost[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, **95**: 200-207.
- [20] Lopez Zavala M A, Funamizu N, Takakuwa T. Biological activity in the composting reactor of the bio-toilet system[J]. *Bioresource Technology*, 2005, **96**(7): 805-812.
- [21] 刁晓平, 孙英健, 孙振钧, 等. 3种兽药对土壤微生物呼吸的影响[J]. 中国农业大学学报, 2006, **11**(2): 39-43.
Diao X P, Sun Y J, Sun Z J, *et al.* Effects of three kinds of veterinary drugs on microbe respiration in different soils[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2006, **11**(2): 39-43.
- [22] Yang L, Zhang S H, Chen Z Q, *et al.* Maturity and security assessment of pilot-scale aerobic co-composting of penicillin fermentation dregs (PFDs) with sewage sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2016, **204**: 185-191.
- [23] Bernai M P, Paredes C, Sánchez-Monedero M A, *et al.* Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes[J]. *Bioresource Technology*, 1998, **63**(1): 91-99.
- [24] Vargas-García M C, Suárez-Estrella F, López M J, *et al.* Microbial population dynamics and enzyme activities in composting processes with different starting materials[J]. *Waste Management*, 2010, **30**(5): 771-778.
- [25] Wei X, Wu S C, Nie X P, *et al.* The effects of residual tetracycline on soil enzymatic activities and plant growth[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 2009, **44**(5): 461-471.
- [26] Wong J W C, Fang M. Effects of lime addition on sewage sludge composting process[J]. *Water Research*, 2000, **34**(15): 3691-3698.
- [27] Sengupta A, Dick W A. Bacterial community diversity in soil under two tillage practices as determined by pyrosequencing[J]. *Microbial Ecology*, 2015, **70**(3): 853-859.
- [28] Zhang W, Huang M H, Qi F F, *et al.* Effect of trace tetracycline concentrations on the structure of a microbial community and the development of tetracycline resistance genes in sequencing batch reactors[J]. *Bioresource Technology*, 2013, **150**: 9-14.
- [29] Sun J J, Qian X, Gu J, *et al.* Effects of oxytetracycline on the abundance and community structure of nitrogen-fixing bacteria during cattle manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2016, **216**: 801-807.
- [30] Takaku H, Kodaira S, Kimoto A, *et al.* Microbial communities in the garbage composting with rice hull as an amendment revealed by culture-dependent and-independent approaches[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2006, **101**(1): 42-50.
- [31] Tang J C, Inoue Y, Yasuta T, *et al.* Chemical and microbial properties of various compost products[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2003, **49**(2): 273-280.
- [32] Wang R, Zhang J Y, Sui Q W, *et al.* Effect of red mud addition on tetracycline and copper resistance genes and microbial community during the full scale swine manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2016, **216**: 1049-1057.
- [33] Wang X J, Pan S Q, Zhang Z J, *et al.* Effects of the feeding ratio of food waste on fed-batch aerobic composting and its microbial community[J]. *Bioresource Technology*, 2017, **224**: 397-404.
- [34] De Gannes V, Eudoxie G, Hickey W J. Prokaryotic successions and diversity in composts as revealed by 454-pyrosequencing[J]. *Bioresource Technology*, 2013, **133**: 573-580.
- [35] Cucurachi M, Busconi M, Marudelli M, *et al.* Direct amplification of new cellulase genes from woodland soil purified DNA[J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, **40**(7): 4317-4325.
- [36] Domínguez-Mendoza C A, Bello-López J M, Navarro-Noya Y E, *et al.* Bacterial community structure in fumigated soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, **73**: 122-129.
- [37] Salinas-Martínez A, De Los Santos-Córdova M, Soto-Cruz O, *et al.* Development of a bioremediation process by biostimulation of native microbial consortium through the heap leaching technique[J]. *Journal of Environmental Management*, 2008, **88**(1): 115-119.
- [38] Stolz A, Bürger S, Kuhn A, *et al.* *Pusillimonas noertemannii* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Alcaligenaceae* that degrades substituted salicylates[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, **55**(Pt 3): 1077-1081.
- [39] 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.
- [40] Ligi T, Oopkaup K, Truu M, *et al.* Characterization of bacterial communities in soil and sediment of a created riverine wetland complex using high-throughput 16S rRNA amplicon sequencing[J]. *Ecological Engineering*, 2014, **72**: 56-66.

CONTENTS

Diurnal Variation of SOA Formation Potential from Ambient Air at an Urban Site in Beijing	LIU Jun, CHU Bi-wu, HE Hong (2505)
Characteristics of Key Size Spectrum of PM _{2.5} Affecting Winter Haze Pollution in Taiyuan	YANG Su-ying, YU Xin-yang, ZHAO Xiu-yong, <i>et al.</i> (2512)
Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Ions in PM _{2.5} During Winter in Panjin	ZHANG Lei, JI Ya-qin, WANG Shi-bao, <i>et al.</i> (2521)
Characteristics and Source Apportionment of Volatile Organic Compounds in the Rainy Season of Guangzhou City	GU Ying-gang, YU Xiao-fang, YANG Wen-da, <i>et al.</i> (2528)
Emission Characteristics of Dehydrated Sugar and Acephenanthrylene in Particles from Tropical Forest Burning	JIN Cheng-miao, CUI Min, HAN Yong, <i>et al.</i> (2538)
Construction and Application of Vertical Diffusion Index for Analyzing Weather During Pollution Events in Tianjin	CAI Zi-ying, HAN Su-qin, ZHANG Min, <i>et al.</i> (2548)
Comparison Between Atmospheric Wet-only and Bulk Nitrogen Depositions at Two Sites in Subtropical China	ZHU Xiao, WANG Jie-fei, SHEN Jian-lin, <i>et al.</i> (2557)
Emission Reduction Benefits When Eliminating Yellow-label Vehicles in the Jing-jin-ji Region	LU Ya-ling, ZHOU Jia, CHENG Xi, <i>et al.</i> (2566)
Health Assessment of the Stream Ecosystem in the North Canal River Basin, Beijing, China	GU Xiao-yun, XU Zong-xue, LIU Lin-fei, <i>et al.</i> (2576)
Pollution Characteristics and Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Phthalic Acid Esters During High Water Level Periods in the Wuhan Section of the Yangtze River, China	DONG Lei, TANG Xian-qiang, LIN Li, <i>et al.</i> (2588)
Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Downstream Areas of the Aojiang River, Fujian Province	ZHANG Dan-dan, GUO Ya-ping, REN Hong-yun, <i>et al.</i> (2600)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in the Sediments of the Estuary of the Tributaries in the Three Gorges Reservoir, SW China	FANG Zhi-qing, CHEN Qiu-yu, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2607)
Assessment of Physico-chemical Properties and Phosphorus Fraction Distribution Characteristics in Sediments after Impounding of the Three Gorges Reservoir to 175 m	PAN Chan-juan, LI Rui, TANG Xian-qiang, <i>et al.</i> (2615)
Source of Nitrate in Surface Water and Shallow Groundwater Around Baiyangdian Lake Area Based on Hydrochemical and Stable Isotopes	KONG Xiao-le, WANG Shi-qin, DING fei, <i>et al.</i> (2624)
Thermal Stratification and Its Impacts on Water Quality in Shahe Reservoir, Liyang, China	SUN Xiang, ZHU Guang-wei, DA Wen-yi, <i>et al.</i> (2632)
Spatial and Temporal Variation Characteristics of Drip Water Hydrogeochemistry in the Xueyu Cave of Chongqing and Its Implications for Environmental Research	ZENG Ze, JIANG Yong-jun, LÜ Xian-fu, <i>et al.</i> (2641)
Distinguishing the Compositions and Sources of the Chromophoric Dissolved Organic Matter in a Typical Karst River During the Dry Season; A Case Study in Bitan River, Jinfo Mountain	LIU Yue, HE Qiu-fang, LIU Ning-kun, <i>et al.</i> (2651)
Environmental Significance of the Stable Isotopes in Precipitation at Different Altitudes in the Tuolai River Basin	LI Yong-ge, LI Zong-xing, GAO Hao-yang, FENG Qi, <i>et al.</i> (2661)
Spatial-Temporal Variations of CO ₂ and CH ₄ Flux Through a Water-air Interface Under the Effect of Primary Productivity in Wulixia Reservoir	PENG Wen-jie, LI Qiang, SONG Ang, <i>et al.</i> (2673)
Spatiotemporal Succession Characteristics of Algal Functional Groups and Its Impact Factors for a Typical Channel-Type Reservoir in a Southwest Mountainous Area	ZHANG Yao-wen, LI Hong, LI Jia, <i>et al.</i> (2680)
Seasonal Succession of Phytoplankton Functional Groups and Their Driving Factors in the Siminghu Reservoir	ZHENG Cheng, LU Kai-hong, XU Zhen, <i>et al.</i> (2688)
Effects of Nutrient Addition on the Growth and Competition of Bloom Forming Cyanobacterium <i>Chrysosporum ovalisporum</i> ; An In-situ Experiment	WANG Meng-meng, ZHANG Wei, ZHANG Jun-yi, <i>et al.</i> (2698)
Purification Effect of Submerged Macrophyte System with Different Plants Combinations and C/N Ratios	LIU Miao, CHEN Kai-ning (2706)
Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Concentration Dynamics in Natural Ditches Under an Irrigation-Drainage Unit in the Jiangnan Plain	HUA Ling-ling, ZHANG Fu-lin, ZHAI Li-mei, <i>et al.</i> (2715)
Distribution and Treatment of Antibiotics in Typical WWTPs in Small Towns in China	CHAI Yu-feng, ZHANG Yu-xiu, CHEN Mei-xue, <i>et al.</i> (2724)
Effects and Mechanism of the Combination of Ozone-PAC as a Pretreatment for the Reduction of Membrane Fouling	DONG Bing-zhi, GAO Hao-yang, HU Meng-liu (2732)
Start-up and Process Characteristics of Simultaneous ANAMMOX and Denitrification (SAD) in a Pilot-scale Anaerobic Sequencing Batch Reactor (ASBR)	YU De-shuang, TANG Jia-jia, ZHANG Jun, <i>et al.</i> (2740)
Phosphate Removal on Zirconium Alginate/Poly(<i>N</i> -isopropyl acrylamide) Hydrogel Beads with a Semi-interpenetrating Network	ZENG Xue-yang, LUO Hua-yong, ZHANG Yao-kun, <i>et al.</i> (2748)
Shortcut Nitrification Rapid Start and Stability of Corn Starch Wastewater	LONG Bei-sheng, LIU Xun-lei, LIU Hong-bo, <i>et al.</i> (2756)
Nitrifying Bacteria Culture in Entrapment Immobilization	YANG Hong, HU Yin-long (2763)
Performance of the Removal of Nitrogen During Anaerobic Ammonia Oxidation Using Different Operational Strategies	AN Fang-jiao, PENG Yong-zhen, DONG Zhi-long, <i>et al.</i> (2770)
Transformation of Protein in Sludge During High Solids Anaerobic Digestion	ZHAN Yu, SHI Wan-sheng, ZHAO Ming-xing, <i>et al.</i> (2778)
Changes in Heavy Metal Speciation and Release Behavior Before and After Sludge Composting Under a Phosphate-rich Atmosphere	LI Yu, FANG Wen, QI Guang-xia, <i>et al.</i> (2786)
Effect of Denitrification and Phosphorus Removal Microorganisms in Activated Sludge Bulking Caused by Filamentous Bacteria	GAO Chen-chen, YOU Jia, CHEN Yi, <i>et al.</i> (2794)
Microbial Population Dynamics During Domestication and Cultivation of Biofilm to Remove and Enrich Phosphate	MENG Xuan, PAN Yang, ZHANG Hao, <i>et al.</i> (2802)
Effects of Elevated Tetracycline Concentrations on Aerobic Composting of Human Feces: Composting Behavior and Microbial Community Succession	SHI Hong-lei, WANG Xiao-chang, LI Qian, <i>et al.</i> (2810)
Effect of Long-term Organic Amendments on Nitric Oxide Emissions from the Summer Maize-Winter Wheat Cropping System in Guanzhong Plain	YUAN Meng-xuan, WANG Jin-feng, TAN Yue-hui, <i>et al.</i> (2819)
Effects of Mushroom Residue Application Rates on Net Greenhouse Gas Emissions in the Purple Paddy Soil	QI Le, GAO Ming, ZHOU Peng, <i>et al.</i> (2827)
Estimation of Winter Wheat Photosynthesized Carbon Distribution and Allocation Belowground via ¹³ C Pulse-labeling	SUN Zhao-an, CHEN Qing, HAN Xiao, <i>et al.</i> (2837)
Effects of Vegetation Restoration on Soil Nitrogen Pathways in a Karst Region of Southwest China	YANG Yi, OUYANG Yun-dong, CHEN Hao, <i>et al.</i> (2845)
Identifying the Origins and Spatial Distributions of Heavy Metals in the Soils of the Jiangsu Coast	LÜ Jian-shu, HE Hua-chun (2853)
Source Identification and Spatial Distribution of Heavy Metals in Soils in Typical Areas Around the Lower Yellow River	YU Yuan-he, LÜ Jian-shu, WANG Ya-meng (2865)
Spatial Variation of Soil Heavy Metals in Lin'an City and Its Potential Risk Evaluation	ZHENG Jing-zhi, WANG Chu-dong, WANG Shi-han, <i>et al.</i> (2875)
Principal Component Analysis and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Farmland Soils around a Pb-Zn Mine in Southwestern China	ZHOU Yan, CHEN Qiang, DENG Shao-po, <i>et al.</i> (2884)
Spatial Variation of Heavy Metals in Soils and Its Ecological Risk Evaluation in a Typical <i>Carya cathayensis</i> Production Area	ZHANG Hong-ju, ZHAO Ke-li, YE Zheng-qian, <i>et al.</i> (2893)
Influence of Biochar Application on Growth and Antioxidative Responses of Macrophytes in Subsurface Flow Constructed Wetlands	HUANG Lei, CHEN Yu-cheng, ZHAO Ya-qi, <i>et al.</i> (2904)
Effect of Iron on the Release of Arsenic in Flooded Paddy Soils	WANG Xin, ZHONG Song-xiong, CHEN Zhi-liang, <i>et al.</i> (2911)
Concentrations and Health Risk Assessments of Heavy Metal Contents in Soil and Rice of Mine Contaminated Areas	TIAN Mei-ling, ZHONG Xue-mei, ZHANG Yun-xia, <i>et al.</i> (2919)
Effect of Calcium Silicate-biological Humus Fertilizer Composite on Uptake of Cd by Shallots from Contaminated Agricultural Soil	LIU De-ling, YIN Guang-cai, CHEN Zhi-liang, <i>et al.</i> (2927)
Accumulation Characteristics of Heavy Metals in Greenhouse Soil and Vegetables in Siping City, Jilin Province	LI Lian-fang, ZHU Chang-xiong, ZENG Xi-hai, <i>et al.</i> (2936)
Effect of Foliar Zinc Application on Bioaccessibility of Cadmium and Zinc in Pakchoi	WANG Lin, GU Peng-lei, LI Ran, <i>et al.</i> (2944)
Mercury Distribution of Benthonic Animals and Response to Mercury in Sediments in Caohai Wetland, Guizhou Province	XU Yi-yuan, ZENG Ling-xia, HE Tian-rong, <i>et al.</i> (2953)
Discussion of Emissions and Health Risk of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) from the Retreading Process of Waste Tires	FU Jian-ping, ZHAO Bo, LI Yu-qing, <i>et al.</i> (2963)
Spatiotemporal Dynamics of CO ₂ Emissions in Chongqing: An Empirical Analysis at the County Level	SUN Xiu-feng, SHI Kai-fang, WU Jian-ping (2971)
Impact of Size on Environmental Behavior of Metal Oxide Nanoparticles	YAN Yu-peng, TANG Ya-dong, WAN Biao, <i>et al.</i> (2982)
Fate and Toxicity of UV Filters in Marine Environments	ZHU Xiao-shan, HUANG Jing-ying, LÜ Xiao-hui, <i>et al.</i> (2991)