

蚯蚓活动对生态滤池微生物群落功能多样性的影响

王永谦^{1,2}, 杨林章¹, 冯彦房^{1,2}, 李天玲^{1,2}, 乔俊^{1,2}
(¹中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008; ²中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:生活污水的蚯蚓生态滤池工艺是在污水生物处理反应器中引入蚯蚓,改善生态滤池的处理环境,提高处理效率,适宜用于农村生活污水处理。以蚯蚓生态滤池(+E)和普通生态滤池(-E)为试验对象,研究了蚯蚓活动对生态滤池基质微生物功能群落结构及代谢特征的影响。结果表明,土壤微生物群落碳源代谢能力随土壤深度的增加而逐渐减小,不同深度的微生物群落碳源代谢特征已基本分异;相比无蚯蚓对照滤池,蚯蚓活动对0~20 cm各基质层微生物群落碳源利用能力有显著促进作用,基质土壤微生物群落的丰富度、均匀度和优势度均得到增强;同时,在蚯蚓作用下,蚯蚓生态滤池0~5 cm和5~10 cm基质层的微生物群落差异减小。蚯蚓通过掘穴、摄食、排泄等生理行为影响了生态滤池0~20 cm基质层的土壤微生物群落功能多样性状况。

关键词: BIOLOG; 功能多样性; 蚯蚓; 生态滤池
中图分类号: X703.1 **文献标志码:** A **论文编号:** 2011-1132

**Effects of Earthworm Activities on the Functional Diversity of
Soil Microbial Community in the Eco-filter**
Wang Yongqian^{1,2}, Yang Linzhang¹, Feng Yanfang^{1,2}, Li Tianling^{1,2}, Qiao Jun^{1,2}
(¹Nanjing Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008;
²Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract: Eco-filter system is a kind of new technology to meet the special request of the wastewater treatment in urban areas, which influences the factors on the sewage treatment, improve the treat efficiency. An experiment with utilizing biolog microplate technique was conducted to investigate the effects of earthworm activities on the metabolic properties and functional diversity of the soil substance microbial in the eco-filter (+E) and control eco-filter (-E). The results showed that the average metabolic activities of the soil substance microbial community carbon source was higher in the upper layer than the lower part, the soil microbial community at all depths was significantly different by the carbon sources utilization. Compared with the control treatment, there were higher microbial ability of carbon source utilization and the richness, evenness and superiority of microbial communities were enhanced with earthworm activities. The average metabolic activities of the soil substance microbial community carbon source were also improved with the presence of earthworms, and the diverseness were diminished with presence of earthworms. The functional diversity of the soil substance microbial in the eco-filter was changed by burrowing, feeding, excretion of earthworms' physiological behaviors.

Key words: BIOLOG; functional diversity; earthworm; eco-filter

第一作者简介:王永谦,男,1985年出生,博士,主要从事农村生活污水处理及环境土壤微生物方面的研究。通信地址:210008 江苏省南京市中国科学院南京土壤研究所生态室, Tel: 025-86881286, E-mail: yqwang@issas.ac.cn。
通讯作者:杨林章,男,1958年出生,研究员,博士生导师,博士,主要从事农田生态系统中营养物质的循环及其对环境的影响,农村面源污染发生机制、负荷量估算及控制技术等的研究。通信地址:210008 江苏省南京市中国科学院南京土壤研究所生态室, Tel: 025-86881591, E-mail: lzyang@issas.ac.cn。
收稿日期:2011-04-19, **修回日期:**2011-06-12。

0 引言

高效、节能、环境友好的污水处理技术已成为研究热点^[1-2]。其中,蚯蚓过滤处理是近年在法国和智利发展起来的一项针对农村生活污水的处理技术,该工艺仅通过向土壤处理系统中接种蚯蚓,改善了污水净化效率^[3-4]。蚯蚓活动如何通过改变基质环境提高水处理效率的机制,引起了研究学者们的研究兴趣^[4-6]。土壤微生物对环境胁迫较敏感,通常作为土壤质量的指示指标^[7];同时,其作为物质循环的动力,在污染物降解过程中起着关键作用,并因此在污水处理领域研究较多^[8-11]。蚯蚓活动在改变生态滤池基质环境的同时,势必影响微生物群落结构的变化,而微生物的代谢功能是影响污染物去除过程和生态滤池运行性能的关键因素。

BIOLOG 方法是通过同时测定微生物对不同单一碳源的利用能力,探索微生物群落结构的方法^[12],广泛应用于鉴定和分析不同体系的微生物群落结构中^[10,13-14]。但该方法在蚯蚓生态滤池水处理系统中鲜有报道。因此,笔者利用 BIOLOG 方法,研究蚯蚓活动对生态滤池土壤微生物功能多样性的影响,以期为解读蚯蚓生态滤池污水处理净化机理提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

农村生活污水小试工程于2009年8月构筑于江苏省无锡市胡埭镇龙岩村。室内试验的土壤理化指标于2009年8月进行分析,水样指标于每次采样后24 h内进行,微生物的Biolog ECO微孔板培养试验于2010年7月进行,所有相关试验均在南京土壤研究所内完成。

1.1.1 运行工况 试验采用野外试验的形式,现场构建了以蚯蚓生态滤池和普通生态滤池为主要研究对象,“三格化粪池和垂直流人工湿地”作为其处理农村生活污水预处理的小试系统,流程如图1所示。当地住户的生活污水经管道收集,汇聚于三格化粪池,化粪池末格污水经泵提升至第一级垂直流人工湿地,湿地出水进入试验所用生态滤池。该小试工程自2009年8月运行至今,系统运行较为稳定。

试验设置了蚯蚓生态滤池(+E)和无蚯蚓的普通生态滤池(-E)作为对照,均采用垂直流人工湿地的出水作为试验用水。

1.1.2 生态滤池构造 生态滤池池体由PVC板制成,直

径×高为Φ 40 cm×100 cm。池体内填充物从底至表,依次是底层:由粒径20~40 mm的卵石组成,厚度约10 cm;承托层:粒径5~7 mm的砾石组成,厚度约10 cm;隔离层,由粒径0.5~1 mm的粗砂组成,厚度约10 cm;土壤层:厚度约20 cm。

1.1.3 其他 土壤成分:土壤填料是特殊配置的人工土,由当地土壤、锯木屑及铁矿粉渣按照体积比10:3:1配成,供试前0~20 cm人工土有机质含量23.38 g/kg,全氮16.19 g/kg,全磷15.34 g/kg,pH 6.23(于2009年8月测定)。供试生活污水:1级人工湿地出水,试验期间水质为COD 49.9~183.28 mg/L,铵态氮19.4~64.7 mg/L,总氮25.0~83.7 mg/L,总磷0.26~4.38 mg/L,pH 7.39~8.21(2009年9月—2010年6月期间,每月监测2次)。

1.2 试验材料

供试蚯蚓品种为‘大平2号赤子爱胜蚓’(Eisena foetida),接种密度为7.96 g/L(蚯蚓质量/土壤体积)。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 于2010年6月在水力负荷0.3 m³/(m²·d)已运行3个月时,在蚯蚓生态滤池和对照生态滤池2个处理中,按照梅花形布点,分别均匀采集3个垂直深度的基质样品(0~5 cm、5~10 cm、10~20 cm)。6个基质样品分别标记为1#(+E, 0~5 cm),2#(+E, 5~10 cm),3#(+E, 10~20 cm),4#(-E, 0~5 cm),5#(-E, 5~10 cm),6#(-E, 10~20 cm)。同时,在生态滤池进样口采集水样。基质样品采集后,去除表面可见的土壤动物和植物残体,迅速过2 mm尼龙网筛,混合均匀。将取好的土壤样品置于冰块上运至实验室,置于4℃的冰箱内保存,取样后48 h内进行Biolog分析。

1.3.2 测定方法 土壤pH采用水浸提, $m(\text{土}):V(\text{水})=2.5:1$;土壤全氮测定采用开式定氮法;全磷测定采用氢氧化钠碱溶-钼锑抗比色法;有机质测定采用重铬酸钾-外加热法。水样pH采用电极法;COD的测定采用重铬酸钾消解法;NH₄⁺-N、TN、TP 3项指标采用荷兰Skalar公司SA-4000型流动分析仪。基质微生物群落功能多样性的研究应用Biolog方法^[15]:准确称取相当于5.00 g干质量(按含水量换算)的新鲜土样,加入至装入45 mL已灭菌的生理盐水(0.85%NaCl)三角烧瓶中(已提前灭菌),室温180 r/min振荡30 min后取出静置5 min,在超净工作台中吸取振荡后的土壤悬液1~19 mL已灭菌的生理盐水中(已提前灭菌),混匀。每孔150 μL,每样1板即每样重复3次,接种悬浮液于Biolog ECO微孔板中,置于25℃暗箱连续培养,分别于24、48、72、96、120、144、168、192 h在590 nm测定吸光度(OD)值。

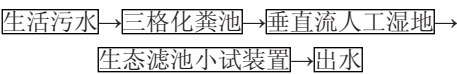


图1 农村生活污水处理工艺流程

1.3.3 平均每孔颜色变化率 (average well color development, AWCD)及多样性指数的计算

(1)平均每孔颜色变化率(AWCD)^[15]。计算公式为: $AWCD=[\sum(C-R)]/31$ 。式中: C 为测得 31 个反应孔的吸光值; R 为对照孔的吸光值。

(2)Shannon 指数(H)^[16]。可以表征土壤中微生物群落丰富度, 计算公式为: $H=-\sum(P_i\ln P_i)$ 。式中: P_i 为第 i 孔相对吸光值($C-R$)与所有 31 孔的吸光值总和的比率。

(3)Simpson 指数(D)^[16]。用于评估土壤中微生物群落优势度, 计算公式为: $D=1-\sum(P_i)^2$ 。式中: P_i 为第 i 孔的相对吸光值与整个平板相对吸光值总和的比率。

(4)McIntosh 指数(U)^[16]。是基于群落物种多维空间距离的多样性指数, 反映土壤中微生物群落均一性, $U=\sum n_i^2$, 式中: n_i 是第 i 孔的相对吸光值。

1.3.4 统计分析 主成分分析应用 SPSS(Version13.0 for Windows)软件的数据 Reduction 程序, LSD 检验采用 DPS12.0 分析, 绘图应用 Excel 2003 软件。

2 结果与分析

2.1 AWCD 及能源代谢程度分析

AWCD 值显示微生物群落对不同碳源代谢的总体情况, 其变化速率反映了微生物的代谢活性, 其最终的 AWCD 值与土壤微生物群落中能利用单一碳源的微生物的数目和种类有关^[13]。由图 2 可知, 在 0~24 h 内, 各处理微生物群落对碳源的利用均较低或只有轻微增加; 24~48 h 间各处理微生物群落对不同类碳源的利用随时间表现出几何级数增加; 48 h 之后直至培养结束 (192 h), 各处理微生物群落对不同类型碳源的利用程度随时间而趋于缓慢, 直至达平衡上升。在滤池的 3 个水平截面上将蚯蚓处理和空白处理相比较, 结果表

明: 蚯蚓活动均能显著提高基质微生物对能源碳的利用程度(AWCD 值较高); 而在生态滤池床体垂直截面上, 无论是接种蚯蚓的处理还是空白处理, 均表现为滤池表层 0~5 cm 的基质微生物群落对碳源的利用程度最高。

2.2 基质微生物群落碳源利用多样性的主成分分析

为研究基质微生物群落碳源利用多样性的特点, 选择 72 h 作为取样时间点, 对 Biolog 测试获得数据进行标准化变换后, 实施主成分分析。提取的主元向量的前 2 个主成分(PC1/PC2)的积累贡献率达 52.45%。将前 2 个主成分得分作图, 表征不同基质微生物群落碳源代谢特征(见图 3); 其中, 与 PC1 和 PC2 相关性较大的碳源如表 1 所示, 其中与 PC1 相关性较大的碳源有 9 种, 而与 PC2 相关性较大的碳源有 2 种。在 PC1 上处理得分是蚯蚓生态滤池的 3 个基质层大于对照生态滤池的 3 个基质层, 即蚯蚓生态滤池对某些碳源如 L -天冬酰胺酸、 L -苯基丙氨酸、 L -丝氨酸等碳源的利用大于对照生态滤池; 在 PC2 上, 得分主要表现为空间结构上的差异, 即 10~20 cm 基质层大于 0~5 cm 及 5~10 cm 的基质层。

2.3 基质对不同碳源代谢能力的差异分析

Biolog-ECO 板含有 31 孔碳源, 按照 Insam 等^[17]的碳源分类法, 将 31 孔碳源分成 6 大类(4 种聚合物、10 种糖类、7 种羧酸、6 种氨基酸、2 种胺类和 2 种酚类)。以 72 的光密度标准化值 R_{si} , 评价微生物群落对不同碳源的利用程度, 结果见表 2。

结果表明: 在 6 类碳源中, 所有处理在培养第 72 h 表现出对不同样点对碳源的利用, 均呈现显著性差异 ($P<0.05$)。总体而言, 上层的微生物群落对糖类和氨基酸的代谢程度较高, 下层对酚酸和羧酸的代谢程度

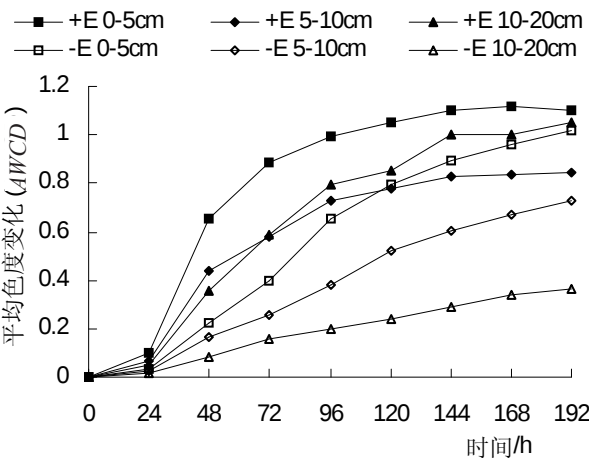


图2 不同基质层 AWCD 值变化曲线

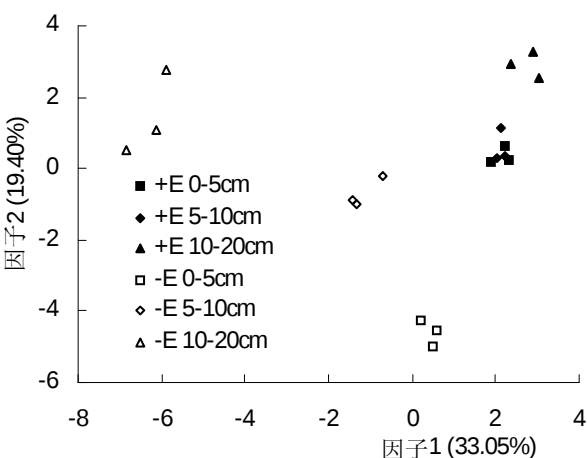


图3 72 h 主成分分析因子载荷

表1 主成分分析中与因子1或因子2相关性较大的碳源种类($R\leq 0.70$)

主成分1			主成分2		
		相关系数			相关系数
氨基酸	<i>L</i> -天冬酰胺酸	-0.89679	多聚物	吐温 40	-0.86531
氨基酸	<i>L</i> -苯基丙氨酸	0.712779	碳水化合物	<i>α</i> - <i>D</i> -乳糖	-0.85307
氨基酸	<i>L</i> -丝氨酸	0.79391			
多聚物	吐温 80	-0.90377			
多聚物	<i>α</i> -环式糊精	0.71233			
酚酸类	2-羟苯甲酸	-0.82542			
碳水化合物	<i>L</i> -赤藻糖醇	0.70545			
碳水化合物	<i>D</i> -甘露醇	0.841182			
碳水化合物	葡萄糖-1-磷酸盐	0.819304			

注:数值后面不同字母表示经LSD检验差异达显著水平($P<0.05$),下同。

表2 不同碳源在 72 h 时的代谢程度(以 *Rsi* 均值表征)统计结果

处理	氨基酸	胺类化合物	多聚物	酚酸	羧酸	碳水化合物
+E 0~5 cm	1.008b	0.799bc	1.549b	0.640b	1.060c	1.221b
+E 5~10 cm	1.122b	1.604a	1.400b	0.703ab	1.021c	1.021c
+E 10~20 cm	0.902b	0.673bc	1.415b	0.813ab	1.221b	1.060c
-E 0~5 cm	1.938a	0.900b	1.520b	0.370c	0.750d	1.365a
-E 5~10 cm	1.160b	0.219d	1.463b	0.626b	1.212b	1.212b
-E 10~20 cm	0.633c	0.538c	1.876a	0.920a	1.365a	0.750d

较高。蚯蚓生态滤池对羧酸类、酚酸类、胺类化合物利用率较高,空白处理对氨基酸、多聚物类化合物利用率较高;空白处理的3个基质层之间对各类碳源的代谢程度均表现出显著的差异性,而蚯蚓生态滤池仅在对胺类化合物、羧酸、碳水化合物3类化合物的代谢程度上表现出显著的差异。

2.4 基质微生物群落功能多样性指数比较分析

笔者根据由Biolog测试获得的72 h光密度数据,计算基质微生物群落的Shannon、Simpson和McIntosh指数,计算结果见表3。采用的3种多样性指数实际反映了土壤微生物群落功能多样性的不同侧面。Magurran^[18]指出,Shannon指数受群落物种丰富度影响较大,Simpson指数较多反映了群落中最常见的物种,

McIntosh^[16]指数则是群落物种均一性的度量。

无论接种蚯蚓与否,各项微生物群落指数在不同的深层之间表现了相似的趋势,表层土壤表层均相对较高,除个别指数外,0~5 cm与10~20 cm之间差异显著($P<0.05$)。将蚯蚓生态滤池与对照处理相比较,蚯蚓处理的各项微生物群落指数在0~5 cm和10~20 cm基质层上,均显著高于对照;但在接种蚯蚓处理中,0~5 cm和5~10 cm基质层间差异不显著。Shannon指数有差异,表明蚯蚓活动对于基质微生物群落的丰富度有明显影响,蚯蚓处理的Simpson指数与对照在各水平层面上同样出现显著差异,说明蚯蚓活动使得基质层微生物群落中某些优势种群的生长。而蚯蚓处理的McIntosh指数与对照之间同样也有显著差异,说明蚯蚓的活动对基质微生物物种均一性也有显著影响。

3 结论

- (1)不同处理的生态滤池3个深度层的土壤微生物碳源利用平均值和多样性指数表现为相似的变化趋势:0~5 cm显著高于10~20 cm;不同深度层微生物群落对31类碳源利用也已产生了分异。
- (2)通过接种蚯蚓,生态滤池的土壤微生物活性和群落物种丰富度、均一度和优势度得到显著地增加;在蚯蚓活动的影响下,蚯蚓生态滤池的0~5 cm和5~10 cm

表3 72 h时的基质微生物群落功能多样性

处理	Shannon 指数	Simpson 指数	McIntosh 指数
+E 0~5 cm	3.261a	23.752a	31.734a
+E 5~10 cm	3.152ab	20.632b	15.707b
+E 10~20 cm	3.178ab	20.108b	16.442b
-E 0~5 cm	2.944b	16.110c	9.517c
-E 5~10 cm	2.940b	14.736c	4.234d
-E 10~20 cm	2.446c	7.086d	3.519d

2个土层的微生物群落基本相同。

(3)在以后的试验中,为了进一步阐明与明确蚯蚓活动对生态滤池土壤微生物群落组成的影响,需要结合更多的研究手段,如PCR-DGGE或PLFA手段。

4 讨论

4.1 土壤微生物碳源利用的空间差异

BIOLOG碳源利用平均值 $AWCD$ 可以反映微生物群落对单一碳源的整体能力,它提供了在相同碳源下不同微生物对碳源利用相比较的可能性。本研究中,无论接种蚯蚓与否,滤池基质各层土壤微生物群落对BIOLOG碳源的总利用吸光值($AWCD$)均表现为随土壤深度的增加而减少,表明滤池基质层表层土壤微生物群落对碳源的利用性较强。由于环境的改变如湿度、渗透压、pH值等方面的改变都有可能引起微生物对碳底物实际利用能力的改变,因此具体造成本试验中不同基质层土壤深度微生物碳源利用差异的原因主要与滤池的水流方向、基质层底物浓度及氧化还原环境有关^[1]。由于生态滤池采用上端进水、下端出水的水流方式,在滤池表层,上级人工湿地出水中未降解完全的有机污染物被表层填料机械过滤、截留与吸附,污染物的底物浓度也相对较高;同时,从氧化还原环境来说,滤池上层代谢能力较强的好氧微生物在表层的数量亦较为丰富^[9],因此上层基质微生物表现出较强的群落代谢能力,类似的结果在Salomo等^[11]及邓欢欢等^[20]对人工湿地的研究中均有出现。同时,BIOLOG碳源利用的主成分分析表明2个处理下的微生物群落不同土层已基本明显分异,这体现在对单一碳源或某类碳源利用的分异上。6类碳源利用差异分析结果也同样说明了不同基质层对不同类碳源的利用差异:因为上层基质距布水管最近,有较多种类和数量的有机物可供利用,从而对部分较易利用的糖类和氨基酸表现出较高的代谢程度;前部下层有机物积累较为明显,且处于更为厌氧的状态^[20]。

4.2 蚯蚓活动对土壤微生物碳源利用的影响

蚯蚓在土壤的活动过程中吞食大量的土壤、有机质和土表植物残落物,而参与到土壤有机质的分解、养分的矿化和释放中^[5-6],同时通过掘穴、摄食、排泄等生理活动影响土壤物理、化学和生物特性^[21],进而改变土壤微生物群落结构、生物量及其活性^[7-9]。本研究中,与无蚯蚓处理相比,接种蚯蚓后使得基质各水平深度的微生物群落碳源平均利用值升高,且BIOLOG碳源利用各项多样性指数也增加。这与一些研究者的结果基本一致:Winding等^[16]通过BIOLOG方法研究表明,蚯蚓活动改变土壤微生物群落的总活性;于建光等^[22]

2007年通过95种碳源研究了蚯蚓活动对秸秆混施小区的0~20 cm土壤微生物群落结构的变化,也得出蚯蚓活动能促进土壤微生物群落碳源利用总活性的结论。本试验所采用的蚯蚓(*Eisenia foetida*)属于表层种,其土壤功能主要是将有机物料或残体粉碎为细小颗粒^[23],赤子爱蚯蚓的这种行为使得各层土壤和有机物料的接触面增大,从而更有利于土壤微生物对有机物料的分解和利用,进而使微生物群落碳源总利用活性和各项多样性指数增加,同时土壤微生物群落结构组成也发生了变化。Sen等^[24]在2008年的蚯蚓用于堆肥的试验结果表明,蚯蚓作用10~40天过程中微生物群落的Shannon多样性指数增加。同时,蚯蚓滤池0~5 cm和5~10 cm基质层的碳源利用结果未被很好地区分,表明这2层之间有着相似的微生物群落。向土壤基质中接种蚯蚓,通过蚯蚓的活动提高微生物环境而增强了土壤微生物活性的同时,蚯蚓的吞食、包裹、转移等行为同样也能影响土壤养分的分布^[25]。Jégou等^[26]通过¹³C标记法揭示了在200多天蚯蚓作用后得出结论,深层种蚯蚓与内层种蚯蚓的掘穴活动会导致凋落物在土层中平均分布,从而影响土壤有机碳在空间分布上的改变。

参考文献

- [1] 李军状,罗兴章,郑正,等.塔式蚯蚓生态滤池处理集中型农村生活污水工程设计[J].中国给水排水,2009,25(04):35-38.
- [2] 李旭东,周琪,黄翔峰,等.高效藻类塘系统处理太湖地区农村生活污水[J].水处理技术,2006,32(06):61-64.
- [3] 罗固源.蚯蚓污水土地处理[J].中国给水排水,1997,13(2):40-42.
- [4] SINHA, R. K., BHARAMBE, G., CHAUDHARI, U. Sewage treatment by vermifiltration with synchronous treatment of sludge by earthworms: a low-cost sustainable technology over conventional systems with potential for decentralization[J].The Environmentalist,2008,28(4):409-420.
- [5] GARG, V., KAUSHIK, DILBAGHI, N. Vermiconversion of wastewater sludge from textile mill mixed with anaerobically digested biogas plant slurry employing *Eisenia foetida*[J]. Ecotoxicology and environmental safety,2006,65(3):412-419.
- [6] HAWKINS, C. L., SHIPITALO, M.J., RUTLEDGE, E.M., et al. Earthworm populations in septic system filter fields and potential effects on wastewater renovation[J].Applied soil ecology,2008,40(1):195-200.
- [7] 曹慧,孙辉,杨浩,等.土壤酶活性及其对土壤质量的指示研究进展[J].应用与环境生物学报,2003,01:105-109.
- [8] 潘晶,张阳,孙铁珩,等.地下渗滤基质中微生物空间分布与污水净化效果[J].中国环境科学,2008,28(7):656-660.
- [9] 魏成,刘平.人工湿地污水净化效率与根际微生物群落多样性的相关性研究[J].农业环境科学学报,2008,27(6):2401-2406.
- [10] KAISER, S., GUCKERT, J., GLEDHILL, D. Comparison of

- activated sludge microbial communities using biolog microplates[J]. Water Science and Technology,1998,37(4/5):57-63.
- [11] SALOMO, S., MUNCH, C., ROSKE, I. Evaluation of the metabolic diversity of microbial communities in four different filter layers of a constructed wetland with vertical flow by Biolog (TM) analysis[J]. Water research,2009,43(18):4569-4578.
- [12] 郑华,欧阳志云,方治国,等.BIOLOG在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用[J].土壤学报,2004,41(3):456-461.
- [13] CHOI, K. H., DOBBS, F. C. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities[J]. Journal of Microbiological Methods,1999,36(3):203-213.
- [14] FANG, C., RADOSEVICH, M., FUHRMANN, J. J. Characterization of rhizosphere microbial community structure in five similar grass species using FAME and BIOLOG analyses[J]. Soil Biology and Biochemistry,2001,33(4/5):679-682.
- [15] 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.
- [16] WINDING, A., RNN, R., HENDRIKSEN, N. B. Bacteria and protozoa in soil microhabitats as affected by earthworms[J]. Biology and fertility of soils,1997,24(2):133-140.
- [17] INSAM, H., RANGGER, A. A new set of substrates proposed for community characterization in environmental samples[M]. I in: Insam H, Rangger A (eds) Microbial communities. New York: Springer, Berlin Heidelberg,1997:259-260.
- [18] MAGURRAN, A. E. Ecological diversity and its measurement[M]. Princeton, N. J.: Princeton University Press, 1988:51-52.
- [19] 吴振斌,周巧红,贺锋,等.构建湿地中试系统基质剖面微生物活性的研究[J].中国环境科学,2003,23(4):422-426.
- [20] 邓欢欢,葛利云,顾国泉,等.垂直流人工湿地基质微生物群落的代谢特性和功能多样性研究[J].水处理技术,2007,33(6):18-21.
- [21] EDWARDS, C. A.. The importance of earthworms as key representatives of the soil fauna[M]. Earthworm Ecology. CRC Press: LLC, 2004:3-9.
- [22] 于建光,陈小云,刘满强,等.秸秆施用下接种蚯蚓对农田土壤微生物特性的影响[J].水土保持学报,2007,21(2):100-103.
- [23] EDWARDS, C. A., Bohlen, J. The biology and ecology of earthworms[M]. 3rd Edition. Publ. Chapman & Hall London,1996.
- [24] SEN, B., CHANDRA, T. Do earthworms affect dynamics of functional response and genetic structure of microbial community in a lab-scale composting system?[J]. Bioresource technology,2009, 100(2):804-811.
- [25] LEE, K. E. Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use[M]. Sydney Australia: Academic Press, 1985:186-196.
- [26] JEGOU, D., CLUZEAU, D., HALLAIRE, V., et al. Burrowing activity of the earthworms *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea giardi* and consequences on C transfers in soil[J]. European journal of soil biology,2000,36(1):27-34.