

周东兴, 李 晶, 宁玉翠, 等. 蚯蚓堆制猪粪过程中Cu、Zn形态变化与关键酶活性间关系的研究[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(6): 1349–1356.
ZHOU Dong-xing, LI Jing, NING Yu-cui, et al. Relationship between Cu and Zn speciations and key enzyme activity in the process of vermicomposting pig manure[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(6): 1349–1356.

蚯蚓堆制猪粪过程中Cu、Zn形态变化与关键酶活性间关系的研究

周东兴, 李 晶, 宁玉翠, 金聪敏, 王恩泽, 李 欣, 刘 多

(东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150030)

摘 要:本研究以半腐熟猪粪为研究对象,利用蚯蚓进行生物处理,探讨蚯蚓堆制猪粪过程中重金属形态与关键酶活性的关系。采用MBCR连续浸提法,研究了猪粪中重金属(Cu、Zn)的赋存形态和关键酶(脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶、脱氢酶)的相关性。试验设4个处理,分别接种3种密度的蚯蚓(基质均为2 kg猪粪):对照处理(猪粪2 kg,不接种蚯蚓,CK);处理1,蚯蚓处理(蚯蚓/基质为1/40,T1);处理2,蚯蚓处理(蚯蚓/基质为1/20,T2);处理3,蚯蚓处理(蚯蚓/基质为1/10,T3)。研究表明,与CK相比,T1、T2、T3各处理的重金属含量与酶活性的变化如下:重金属Cu的含量分别降低了19.66%、24.81%、26.41%,Zn含量分别降低了10.82%、14.34%、19.58%;蔗糖酶活性分别升高55.47%、46.87%和34.83%,碱性磷酸酶活性分别升高了116.38%、100.48%和94.65%,脲酶活性分别降低了42.02%、26.73%和10.08%,脱氢酶活性分别升高了32.79%、58.97%、53.87%。由本试验得出,蚯蚓处理后的堆制物中Cu、Zn两种重金属元素的含量下降,重金属形态随着蚯蚓处理向稳定态转化,两种重金属的形态均表现为残渣态含量较高。蚯蚓堆制过程中,各处理较CK处理能够显著提高酶活性。Cu、Zn的各化学形态与酶活性的关系是,可还原提取态和可氧化提取态对堆制物酶活性的抑制作用最大,残渣态和弱酸提取态对堆制物酶活性有一定的抑制作用,水溶态对堆制物酶活性影响程度较小。

关键词:蚯蚓堆制;猪粪;重金属;形态;酶活性

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2019)06-1349-08 doi:10.11654/jaes.2018-1255

Relationship between Cu and Zn speciations and key enzyme activity in the process of vermicomposting pig manure

ZHOU Dong-xing, LI Jing, NING Yu-cui, JIN Cong-min, WANG En-ze, LI Xin, LIU Duo

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

Abstract: In this research, semi-decomposed pig manure was used to study the relationship between heavy metal speciations and key enzyme activity during vermicomposting. The MBCR method was used to determine the speciations of copper (Cu) and zinc (Zn). The key enzymes included urease, alkaline phosphatase, catalase, and invertase. The experiment involved four treatments with different earthworm densities for vermicomposting 2 kg of semi-decomposed pig manure. The treatment of the control (CK) only had 2 kg of substrate without earthworms. The earthworm substrate ratio for treatments T1, T2, and T3 was 1:40, 1:20, and 1:10, respectively. The results showed that, compared with CK, the contents of Cu in treatments T1, T2, and T3 decreased by 19.66%, 24.81%, and 26.41%, respectively, whereas the corresponding Zn contents in the treatments decreased by 10.82%, 14.34%, and 19.58%. The enzyme activity of invertase increased by 55.47%, 46.87%, and 34.83%, respectively; urease decreased by 42.02%, 26.73%, and 10.08%, respectively; alkaline phosphatase in-

收稿日期:2018-10-08 录用日期:2018-12-18

作者简介:周东兴(1972—),男,山东临邑人,教授,主要从事农业生态学研究。E-mail:zhboshi@163.com

基金项目:“十三五”国家重点研发计划项目(2018YFD0300106)

Project supported: The National Key R&D Program of China(2018YFD0300106)

creased by 116.38%, 100.48%, and 94.65%, respectively; and dehydrogenase increased by 32.79%, 58.97%, and 53.87%, respectively, for T1, T2, and T3 treatments. The content of Cu and Zn in the vermicompost decreased, and the speciations of Cu and Zn tended to be stable in residual form. Furthermore, vermicomposting could significantly increase enzyme activity, which was inhibited by the oxidizable and reducible specifications of Cu and Zn, followed by the residual and acid-soluble specifications. Additionally, the water-soluble specifications of heavy metals had little effect on enzyme activity.

Keywords: vermicomposting; pig manure; heavy metal; speciation; enzyme activity

近年来,为提高动物的产量、生殖率和免疫力,养殖场广泛使用含重金属的饲料添加剂,饲料中重金属含量超标现象严重^[1],然而,这些重金属元素在畜禽体内利用率很低,95%以上会随畜禽粪尿排泄出来^[2],畜禽粪便长期大量地直接农用会导致土壤及植物中重金属含量增加^[3],处理不当很容易对周围环境造成严重影响^[4]。其中以猪粪便中的重金属Cu、Zn污染最为严重^[5],因此,关于猪粪中重金属Cu、Zn污染残留的问题急需解决。重金属的危害不仅与其含量有关,更重要的是取决于其赋存形态^[6],重金属的形态直接影响重金属的毒性、迁移及其在自然界中的循环^[7],如何处理猪粪中残留的重金属成为许多研究者关心的问题。目前,有研究者认为利用蚯蚓处理猪粪是一种较好的方式,蚯蚓可以促进猪粪中的有机质分解,对重金属元素具有很强的富集作用,具有修复重金属污染的潜力^[8]。但蚯蚓作用对猪粪中重金属形态和酶活性的影响方面研究较少。

此外,重金属污染程度还可由一些酶的酶活性稳定而敏感地反映出来,因此探讨用酶活性作为判定重金属污染程度的生化指标具有重要意义^[9]。关于猪粪中重金属的研究,前人已做了大量的工作,但大多集中在猪粪中重金属含量、钝化、去除及形态转化等方面,而关于形态与酶活性间的关系,可供参考的研究非常有限。因此,本文以半腐熟猪粪为研究对象,利用蚯蚓处理的方式进行试验,定期测定试验过程中猪粪的重金属含量、形态及酶活性,研究了蚯蚓处理猪粪过程中重金属形态及酶活性的变化,同时探讨了酶活性对猪粪中重金属形态迁移转化的影响,以期研究猪粪中重金属迁移转化规律提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料及理化性质

供试猪粪:半腐熟状态猪粪,来源为哈尔滨市周边养殖户,去除杂物,过2 mm筛备用,其基本理化性质和重金属含量如表1所示。

供试蚯蚓:取自哈尔滨市双城区蚯蚓养殖厂,为赤子爱胜蚓属,选取具有明显生殖环带的健康成蚓,试验前,先用清水冲洗干净蚯蚓体表,并用滤纸擦干水分后将其置于湿润的滤纸上,避光清肠处理24 h,再次洗净蚯蚓体表,在猪粪中进行驯养。驯养至少2周后,挑选出大小均匀的蚯蚓进行猪粪处理试验。

1.2 试验设计

本试验以泡沫箱作为试验装置,分别称取2 kg(干物质量)过2 mm筛的猪粪于泡沫箱中,用去离子水调节猪粪湿度为60%左右,根据试验设计每箱放入不同数量的大小均匀、生长活跃、环带明显的成蚓,并用细纱网覆盖以防蚯蚓逃逸,置于室温条件下进行培养。试验设4个处理,分别接种3种密度的蚯蚓(基质均为2 kg猪粪):对照处理(猪粪2 kg,不接种蚯蚓,CK);处理1,蚯蚓处理(蚯蚓/基质为1/40,T1);处理2,蚯蚓处理(蚯蚓/基质为1/20,T2);处理3,蚯蚓处理(蚯蚓/基质为1/10,T3)。本试验蚯蚓处理周期定为2个月,每周定期取样,取样后将样品风干后,用于测定酶活性和重金属形态。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 酶活性测定

脲酶活性采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定;蔗糖酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定;磷酸酶活性测定采用磷酸苯二钠比色法测定;脱氢酶活性

表1 所用原料基本性质
Table 1 Chemical properties of the materials

原料 Material	总有机碳 Total organic carbon/ g·kg ⁻¹	全氮 Total nitrogen/ g·kg ⁻¹	全磷 Total phosphorus/ g·kg ⁻¹	全钾 Total potassium/ g·kg ⁻¹	Cu/mg·kg ⁻¹	Zn/mg·kg ⁻¹	pH
猪粪Pig manure	473.88±6.25	42.61±0.67	54.24±1.30	18.08±0.14	544.19±7.20	893.58±16.83	7.56±0.03

采用氯化三苯基四氮唑(TTC)比色法测定^[10]。

1.3.2 重金属形态测定

采用MBCR连续浸提法^[11]进行Cu、Zn形态的测定,依次得到水溶态(B1)、弱酸提取态(B2)、可还原提取态(B3)、可氧化提取态(B4)、残渣态(B5)5种重金属形态,原子吸收分光光度法测定。

1.4 数据统计

试验数据采用Excel 2010进行数据处理分析和作图。IBM SPSS Statistics 19.0软件进行相关性统计分析。

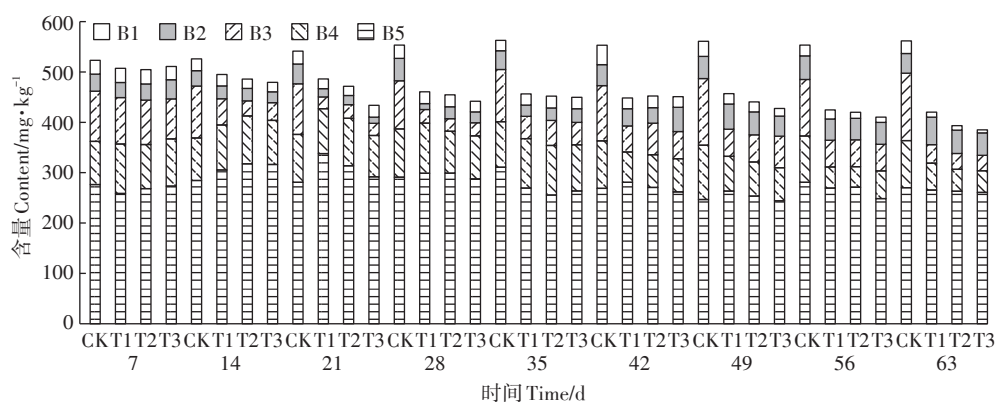
2 结果与分析

2.1 蚯蚓处理猪粪过程中重金属的变化特征

由图1、图2可知,蚯蚓处理过程中,重金属Cu的浓度呈现逐渐降低趋势,Zn的浓度则先降低后又有所升高,但仍显著低于初始值。试验结束后,蚯蚓处

理组的两种重金属含量T1(Cu)、T2(Cu)、T3(Cu)和T1(Zn)、T2(Zn)、T3(Zn)分别降低了19.66%、24.81%、26.41%和10.82%、14.34%、19.58%,说明蚯蚓处理可以降低猪粪中重金属含量,且蚯蚓条数越多,重金属含量降低的越多。蚯蚓体内重金属含量与猪粪中重金属含量的比值为富集系数^[12],因此计算得到本试验蚯蚓处理结束后T1、T2和T3各处理重金属Zn元素的富集系数分别为0.18、0.22和0.26,Cu元素的富集系数分别为0.13、0.15和0.20,且各处理的两种元素的富集系数均表现为Zn>Cu。

动植物对重金属的吸收量与重金属的生物有效性紧密相关。重金属各种形态在环境中的生物可利用性顺序为:水溶态>弱酸提取态>可还原提取态>可氧化提取态>残留态。其中,前3种形态具有较高生物有效性,属于不稳定形态,后2种属于稳定形态。如图1所示,Cu主要以残渣态存在,试验结束时,T1、



B1 水溶态, B2 弱酸提取态, B3 可还原提取态, B4 可氧化提取态, B5 残渣态。下同
B1 is water-soluble, B2 is acid-soluble, B3 is reducible, B4 is oxidizable, B5 is residue. The same below

图1 重金属Cu的形态分布

Figure 1 The distribution of speciations of heavy metal Cu

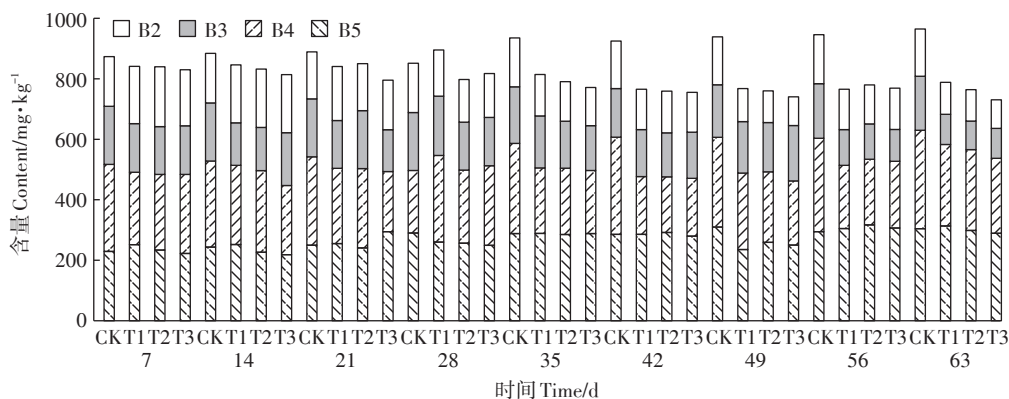


图2 重金属Zn的形态分布

Figure 2 The distribution of speciations of heavy metal Zn

T2 和 T3 处理组残渣态所占的百分比分别增长了 10.32%、14.06% 和 14.94%。随着蚯蚓处理过程的进行,可氧化态和残渣态两种稳定态重金属所占的百分比呈先增加后降低并趋于稳定,试验结束后,T1、T2 和 T3 处理组比 CK 处理的稳定态重金属增加了 6.67%、8.76% 和 9.64%。

从图 2 中可以看出,整个处理过程中 Zn 水溶态未检出,主要以残渣态的形式存在,试验结束时 T1、T2 和 T3 处理组的残渣态所占的百分比分别增长了 13.5%、12.80% 和 13.35%。随着蚯蚓处理过程的进行,可氧化态和残渣态两种稳定态重金属所占的百分比逐渐增加,试验结束后,T1、T2 和 T3 处理组比 CK 处理稳定态重金属含量增加了 14.75%、14.88% 和 14.34%。

2.2 蚯蚓处理猪粪过程中酶活性变化

2.2.1 蔗糖酶活性的变化

由图 3 可以看出,蚯蚓处理过程中,不同时期各处理均表现为 T3 处理对蔗糖酶活性影响最大。表现为蚯蚓条数越多蔗糖酶活性越高,蔗糖酶活性的变化趋势是逐步升高,到第 49 d 后趋于平稳。试验结束与初始时相比,T1、T2、T3 处理蔗糖酶含量升高,分别升高 55.47%、46.87% 和 34.83%,蚯蚓处理各时期蔗糖酶活性均较 CK 处理显著增强,这是由于蚯蚓活动带来丰富的能源以及微生物,促进堆制物中微生物代谢,进而提高了酶活性。

2.2.2 脲酶活性的变化

处理初期,脲酶活性逐渐升高,在第 42 d 上升至最大,随后呈下降趋势,但下降幅度不大(图 3)。这是由于在蚯蚓处理前期阶段,堆制物中微生物数量及活性的增加,引起脲酶活性升高。本研究发现,试验结束时,T1、T2、T3 处理中脲酶活性分别降低了

42.02%、26.73% 和 10.08%,蚯蚓处理后脲酶活性降低,脲酶活性对尿素的转化作用具有很大的影响,其活性的降低可以促进氮素的缓释作用。

2.2.3 脱氢酶活性的变化

脱氢酶活性在蚯蚓处理初期呈显著上升趋势,其中第 28 d 达到峰值,而后呈降低趋势(图 3),这可能与蚯蚓处理的底物浓度变化有关。此外,相同处理时间下,各处理酶活性显著高于 CK 处理,且 T3 处理脱氢酶活性最高,说明 T3 处理可能具有相对较高的微生物活性。试验结束时,各处理脱氢酶活性与试验初期相比,T1、T2、T3 处理脱氢酶活性分别升高了 32.79%、58.97%、53.87%,脱氢酶活性在处理初期不断升高,反映了蚯蚓处理过程的氧化反应主要在初期进行。蚯蚓处理的脱氢酶活性在整个处理过程中高于 CK 处理,说明加蚯蚓处理对堆制物的分解具有促进作用。

2.2.4 碱性磷酸酶活性的变化

由图 3 可以看出,各处理对堆体中碱性磷酸酶活性的影响差异显著。在蚯蚓处理初期(7~21 d),各处理组碱性磷酸酶活性均升高,且在第 21 d 出现第一个小高峰;后在蚯蚓处理的第 49 d 各处理酶活性均达到最高。从整个处理过程来看,碱性磷酸酶活性在不同时期的变化波动较大。试验结束时,T1、T2、T3 处理的碱性磷酸酶活性较试验开始时升高了 116.38%、100.48% 和 94.65%,说明蚯蚓处理能够显著提高碱性磷酸酶活性。在蚯蚓处理过程中各时期各处理的碱性磷酸酶活性均较 CK 处理显著增强,这可能是蚯蚓生命活动产生的分泌物与微生物协同作用导致的。

2.3 重金属形态与酶活性的相关性分析

重金属与土壤中脲酶、磷酸酶、蔗糖酶、脱氢酶等酶活性紧密相关。为此,本文在研究过程中选择堆制

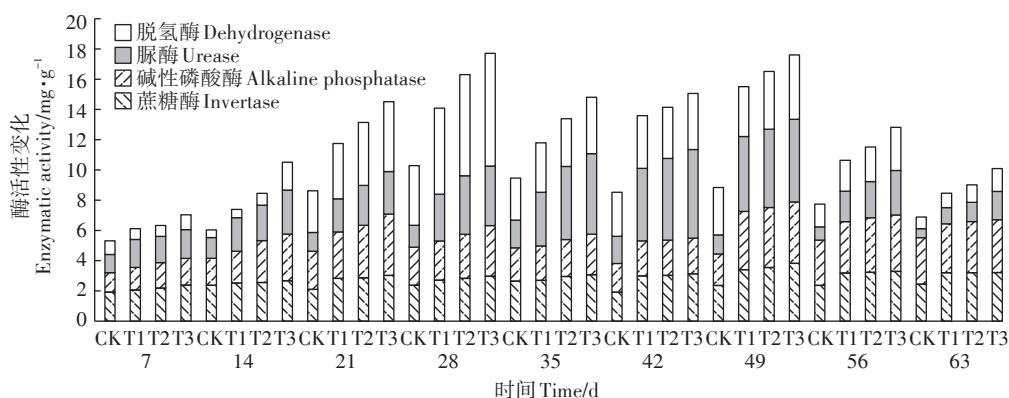


图3 蚯蚓处理对堆体中酶活性的影响

Figure 3 Effects of the enzymatic activities during vermicomposting

物中脱氢酶、脲酶、磷酸酶和蔗糖酶作为其中关键酶的代表进行研究。堆体中Cu和Zn各形态含量与堆体中酶活性的相关性如表2所示,对于重金属Cu,其水溶态与脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶活性呈显著负相关,弱酸提取态与脱氢酶和碱性磷酸酶活性呈显著负相关,可还原提取态与脲酶、碱性磷酸酶活性呈显著负相关,可氧化提取态与蔗糖酶活性呈极显著负相关,该形态还与碱性磷酸酶活性呈显著负相关,残渣态与蔗糖酶活性呈极显著负相关。对于重金属Zn,弱酸提取态与蔗糖酶活性呈极显著负相关,其可还原提取态与蔗糖酶活性呈极显著负相关,可氧化提取态与脲酶活性呈极显著负相关,该形态还与碱性磷酸酶和脱氢酶活性呈显著负相关,残渣态与蔗糖酶活性呈显著负相关。

Cu元素与碱性磷酸酶和蔗糖酶活性呈显著负相关,Zn元素与4种酶活性均呈负相关,但由相关性系数计算可以看出,这两种元素的各个形态对酶活性的相关性大多明显高于总量与酶活性的相关性。

3 讨论

3.1 蚯蚓处理对重金属含量及形态变化的影响

本研究发现,各处理组重金属含量与CK处理相比均有不同程度降低,且表现为蚯蚓条数越多,重金属含量降低越多,表明蚯蚓处理能够显著降低重金属含量^[13-14]。然而,CK处理Cu、Zn两种重金属元素的含量均表现为略有升高,主要是由于堆置物料中易挥发成分的浓缩作用^[15]导致的。重金属含量下降有两方面原因,一方面,蚯蚓处理猪粪过程是有机物料在微生物作用下完成的,是一个复杂的发酵过程,有机物经蚯蚓与微生物共同作用分解并腐殖化^[16],同时蚯蚓

的分泌产物会影响和调控它周围堆体中的微生物的数量活性^[17]以及堆体的pH值,从而活化堆体中的重金属^[18],降低堆体中的重金属含量。另一方面,蚯蚓在处理猪粪过程中积累了大量的重金属,使猪粪中重金属的含量降低,许多研究均表明蚯蚓能富集重金属^[19-21];本试验蚯蚓处理结束后Cu、Zn两种元素的富集系数表现为Zn>Cu。大量的试验研究表明蚯蚓对猪粪中这两种重金属元素的吸收富集能力均表现为Zn>Cu^[22-26],与本研究结果一致。

此外,在本研究中各处理的Cu、Zn两种元素稳定形态所占比例增加,表明蚯蚓处理能够降低其生物有效性。蚯蚓处理过程中促进了腐殖质的形成,引起残渣态Cu元素的变化,从而导致其稳定态所占比例增加,有助于不稳定态重金属向稳定态转化^[27]。综上所述表明蚯蚓处理有利于Cu元素趋于稳定,且添加蚯蚓条数越多,Cu元素稳定态含量越高。Zn元素稳定态比例增加主要是由水溶态的变化引起的,这部分重金属吸附于黏粒矿物或腐殖质等活性组分上,易于转化,对pH值变化敏感,pH低时易于释放到环境中^[28],本研究在蚯蚓处理过程中pH由开始的7.56下降到6.14,促进了水溶态Zn的释放,降低了不稳定态Zn的含量,促使Zn元素向稳定态转化。

3.2 蚯蚓处理过程中对堆制物酶活性的影响

本研究的堆制物中蔗糖酶活性随蚯蚓处理进程呈现出先升高后趋于平稳,脲酶和脱氢酶活性则表现为先升高后降低,与大多学者研究结果一致^[29-31]。这是由于处理初期蚯蚓的活动改善了堆体的内部环境,提高了微生物活性,促进堆体中物料的分解,从而使各处理酶活性升高,而在处理后期各处理的酶活性呈降低趋势,可能是与蚯蚓处理过程中底物浓度的变化

表2 重金属形态与酶活性之间的线性相关系数

Table 2 Relationship between heavy metals speciations and enzymes activities

元素 Elements	酶 Enzymes	水溶态 Water soluble	弱酸提取态 Acid soluble	可还原提取态 Reducible	可氧化提取态 Oxidisable	残渣态 Residue	总量 Total content
Cu	脲酶 Urease	-0.909*	-0.856	-0.904*	-0.845	-0.839	-0.885
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	-0.936*	-0.909*	-0.972*	-0.907*	-0.887	-0.941*
	蔗糖酶 Invertase	-0.968*	-0.568	-0.892	-0.983**	-0.993**	-0.965*
	脱氢酶 Dehydrogenase	-0.854	-0.909*	-0.889	-0.790	-0.773	-0.840
Zn	脲酶 Urease	—	-0.852	-0.762	-0.993**	-0.579	-0.951*
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	—	-0.889	-0.825	-0.959*	-0.635	-0.976*
	蔗糖酶 Invertase	—	-0.991**	-0.997**	-0.810	-0.958*	-0.928*
	脱氢酶 Dehydrogenase	—	-0.784	-0.687	-0.967*	-0.473	-0.914*

注:**在0.01水平上显著相关,*在0.05水平上显著相关;—表示未检出。

Note:** indicates significantly correlated at 0.01 level,* indicates significantly correlated at 0.05 level, and — is not detected.

有关^[32]。各处理不同时期碱性磷酸酶活性变化较大,最终表现为碱性磷酸酶活性显著升高。本研究得到的结果与他人研究具有一定差异性^[33],产生差异的原因可能由于蚯蚓投放密度、温度等的不同进而影响蚯蚓及微生物生存环境,导致微生物量和活性降低,从而影响了酶的活性。

在蚯蚓处理过程中相同处理时间条件下,各处理组的酶活性均显著高于CK处理,说明蚯蚓处理可以有效提高堆制物中各种酶活性,这是因为蚯蚓通过摄食、消化、排泄有机颗粒物产生大量蚓粪等代谢产物,从而影响微生物群落的数量、组成与活性^[34-36],进而提高酶活性。此外,蚯蚓生命活动能够直接作用于底物,而且能够与微生物存在共生关系,随着蚯蚓条数的增加,蚯蚓的直接作用以及与微生物的协同作用都得以加强^[37],致使各处理酶活性显著高于CK处理。

3.3 蚯蚓处理过程中重金属形态与酶活性的相关性

蚯蚓堆制过程中重金属不同赋存形态与酶活性存在一定的相关性。通过相关分析发现,蚯蚓处理猪粪过程中重金属Cu和Zn不同赋存形态与酶活性存在以下相关性:脲酶活性与Cu的水溶态、可还原提取态显著相关,其中水溶态Cu对脲酶活性的抑制作用贡献最大,同时,可氧化提取态Zn对脲酶活性的抑制作用贡献最大。碱性磷酸酶活性与Cu的水溶态、弱酸提取态、可还原提取态、可氧化提取态显著相关,但可还原提取态Cu对碱性磷酸酶活性的抑制作用贡献最大;同时可氧化提取态Zn对碱性磷酸酶活性的抑制作用贡献最大。蔗糖酶活性与Cu的水溶态、可氧化提取态和残渣态显著相关,其中残渣态Cu对蔗糖酶活性的抑制作用贡献最大;蔗糖酶活性还与Zn的弱酸提取态、可还原提取态和残渣态显著相关,其中可还原提取态Zn对蔗糖酶活性抑制作用贡献最大。脱氢酶活性与Cu的弱酸提取态和Zn的可氧化提取态显著相关,且这两种形态对脱氢酶活性抑制作用贡献最大。本研究得到的结果与李玉等^[28]的研究不同,引起差异的原因可能是研究基质不同且本文采用蚯蚓堆置方式来处理基质,这些都会影响各种酶活性与重金属形态的相关性。表2中蔗糖酶与可氧化提取态和残渣态Cu达到极显著负相关,说明蔗糖酶对Cu较敏感;脲酶与可氧化提取态Zn呈极显著负相关,蔗糖酶与弱酸提取态Zn和可还原提取态Zn达到极显著负相关,说明脲酶和蔗糖酶对Zn较敏感。本研究初步表明,这些酶活性的大小能够反映猪粪中重金属Cu和Zn污染程度,此结果尚需进一步验证。

此外,本研究发现Cu和Zn的各形态对酶活性的相关性程度大多明显高于其总量与酶活性的相关性,说明用重金属形态来研究重金属与酶活性的关系比重金属总量指标更为准确,这与刘霞等^[38]的研究结果一致。综上所述表明,一方面重金属各形态浓度的变化会激活或抑制酶活性,另一方面蚯蚓在堆制猪粪过程中酶活性的变化也可以用来指示猪粪中重金属含量和形态转化状况^[39]。

4 结论

(1)蚯蚓处理结束时,堆制物中Cu、Zn两种重金属元素的含量均下降,形态随着蚯蚓处理向稳定态转化,主要以残渣态含量较高,蚯蚓处理能够降低重金属元素的生物有效性。

(2)蚯蚓处理能够提高脲酶、蔗糖酶、脱氢酶和碱性磷酸酶活性,且随着蚯蚓处理时间的延长脲酶、脱氢酶、蔗糖酶均呈先升高后降低趋势,其中碱性磷酸酶的变化趋势不明显。

(3)堆制物中Cu、Zn的各化学形态与酶活性的关系为可还原提取态和可氧化提取态对堆制物酶活性的抑制作用最大,残渣态和弱酸提取态对堆制物酶活性的有一定的抑制作用,水溶态对堆制物酶活性影响程度较小。

参考文献:

- [1] Diop M, Howsam M, Diop C, et al. Spatial and seasonal variations of trace elements concentrations in liver and muscle of round Sardinelle (*Sardinella aurita*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*) along the Senegalese coast[J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 758-766.
- [2] 袁云丽. 猪饲料和粪便中重金属的土壤累积效应及其环境影响研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2012.
YUAN Yun-li. Research on soil accumulation effect and environmental impact of heavy metal in pig feed and swine manure[D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2012.
- [3] 姚丽贤, 操君喜, 李国良, 等. 连续施用养殖场鸡、鸽粪对土壤养分和重金属含量的影响[J]. *环境科学*, 2007, 28(4): 819-825.
YAO Li-xian, CAO Jun-xi, LI Guo-liang, et al. Effect of continuous application of chicken and pigeon manure from poultry farms on concentrations of soil nutrients and heavy metals[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(4): 819-825.
- [4] Madrid F, Lopez R, Cabrera F. Metal accumulation in soil after application of municipal solid waste compost under intensive farming conditions[J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2007, 119(3/4): 249-256.
- [5] 李明. 高温堆肥与蚯蚓堆肥对城市污泥重金属形态的影响[J]. *环境工程学报*, 2008, 2(10): 1408-1412.

- LI Ming. Effects of high temperature and earthworm composting on heavy metal speciation changes in municipal sludge[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2008, 2(10):1408-1412.
- [6] 傅金祥, 沙明卓, 于鹏飞, 等. 污水污泥中重金属形态分析研究[J]. 给水排水, 2010, 36(增刊1):119-122.
- FU Jin-xiang, SHA Ming-zhuo, YU Peng-fei, et al. The analysis of heavy metal forms in sewage sludge[J]. *Water and Wastewater Engineering*, 2010, 36(Suppl 1):119-122.
- [7] 林 汲, 程 琛, 韩明强, 等. 硅藻土有机肥对Cd-Zn复合污染土壤重金属形态和有效性的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31(8):366-371.
- LIN Ji, CHENG Chen, HAN Ming-qiang, et al. Effects of diatomite organic fertilizer on Cd and Zn forms and availability of Cd-Zn polluted soil[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2014, 31(8):366-371.
- [8] 唐 浩, 朱 江, 黄沈发, 等. 蚯蚓在土壤重金属污染及其修复中的应用研究进展[J]. 土壤, 2013, 45(1):17-25.
- TANG Hao, ZHU Jiang, HUANG Shen-fa, et al. Review on application of earthworm in soil heavy metal pollution and remediation[J]. *Soils*, 2013, 45(1):17-25.
- [9] 苏霄雨. 重金属及农药对土壤酶活性的影响和吊兰植物富集Cd、Zn的研究[D]. 新乡:河南师范大学, 2015.
- SU Xiao-yu. The influences of heavy metals and pesticide on soil enzyme activity and the plant enrichment of Cd, Zn[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2015.
- [10] 关松荫. 土壤酶及研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986:274-294.
- GUAN Song-yin. Soil enzyme and study method[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986:274-294.
- [11] 涂剑成. 污水厂污泥中重金属脱除技术及污泥特性变化的研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2011.
- TU Jian-cheng. Removal of heavy metals for agriculture application of dewatered sludge from wastewater treatment plant and the characteristics of sludge[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2011.
- [12] 陈玉成, 皮广浩, 黄伦生, 等. 城市生活垃圾蚯蚓处理的因素优化及其重金属富集研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(11):2006-2010.
- CHEN Yu-cheng, PI Guang-hao, HUANG Lun-sheng, et al. Factor optimization for municipal domestic wastes treatment by earthworms and its concentration of heavy metals[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(11):2006-2010.
- [13] Wang L, Zhang Y, Lian J, et al. Impact of fly ash and phosphatic rock on metal stabilization and bioavailability during sewage sludge vermicomposting[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 136(5):281-287.
- [14] He X, Zhang Y, Shen M, et al. Effect of vermicomposting on concentration and speciation of heavy metals in sewage sludge with additive materials[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 218:867-873.
- [15] 何增明, 刘 强, 谢桂先, 等. 好氧高温猪粪堆肥中重金属砷、铜、锌的形态变化及钝化剂的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 10(21):2659-2665.
- HE Zeng-ming, LIU Qiang, XIE Gui-xian, et al. Changes of heavy metals form during aerobic high temperature composting of pig manure and the effects of passivators[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 10(21):2659-2665.
- [16] Garcia-Mina J M. Stability solubility and maximum metal binding capacity in metalhumic complexes involving humic substances extracted from peat and organic compost[J]. *Org Geochem*, 2006, 37(12):1960-1972.
- [17] 罗天相, 姜国清, 龚国勇. 蚯蚓对污泥理化性质及重金属含量的影响研究进展[J]. 广东农业科学, 2017, 44(9):75-81.
- LUO Tian-xiang, JIANG Guo-qing, GONG Guo-yong. Effects of earthworms on physiochemical properties and heavy metal content of sludge: A review[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2017, 44(9):75-81.
- [18] 俞协治, 成杰民. 蚯蚓对土壤中铜、镉生物有效性的影响[J]. 生态学报, 2003, 23(5):922-928.
- YU Xie-zhi, CHENG Jie-min. Effect of earthworm on bio-availability of Cu and Cd in soils[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(5):922-928.
- [19] Lv B, Xing M, Yang J. Speciation and transformation of heavy metals during vermicomposting of animal manure[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 209:397-401.
- [20] 徐铁群, 周 璟, 董秀华, 等. 蚯蚓活动对城市生活污水污泥重金属的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(12):2431-2435.
- XU Yi-qun, ZHOU Jing, DONG Xiu-hua, et al. Effects of earthworm activity on heavy metals in sewage sludge[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(12):2431-2435.
- [21] Kızılkaya R, Süheyda H, Türkay F. Vermicomposting of anaerobically digested sewage sludge with hazelnut husk and cow manure by earthworm *Eisenia foetida*[J]. *Compost Science and Utilization*, 2014, 22(2):68-82.
- [22] Li L, Wu J, Tian G, et al. Effect of the transit through the gut of earthworm (*Eisenia fetida*) on fractionation of Cu and Zn in pig manure[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 167(1):634-640.
- [23] 魏明蓉, 刘康怀, 李艳红, 等. 蚯蚓对城市污水污泥中重金属的富集特征[J]. 桂林理工大学学报, 2015, 35(3):561-564.
- WEI Ming-rong, LIU Kang-huai, LI Yan-hong, et al. Enrichment characteristics of earthworm on heavy metal in sludge from municipal sewage treatment plant[J]. *Journal of Guilin University of Technology*, 2015, 35(3):561-564.
- [24] 伏小勇, 秦 赏, 杨 柳, 等. 蚯蚓对土壤中重金属的富集作用研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(1):78-83.
- FU Xiao-yong, QIN Shang, YANG Liu, et al. Effects of earthworm accumulation of heavy metals in soil matrix[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(1):78-83.
- [25] 王振中, 张友梅, 邓继福, 等. 重金属在土壤生态系统中的富集及毒性效应[J]. 应用生态学报, 2006, 17(10):1948-1952.
- WANG Zhen-zhong, ZHANG You-mei, DENG Ji-fu, et al. Enrichment and toxicity effect of heavy metals in soil ecosystem[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(10):1948-1952.
- [26] 陈学民, 王 惠, 伏小勇. 赤子爱胜蚓处理污泥对其性质变化的影响[J]. 环境工程学报, 2010, 4(6):1421-1425.
- CHEN Xue-min, WANG Hui, FU Xiao-yong, et al. Effect of vermicomposting using *Eisenia foetida* on properties of sewage sludge[J].

- Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2010, 4(6): 1421–1425.
- [27] 黄伟飞, 舒英钢, 蔡璐, 等. 污水处理系统耦合水蚯蚓后的重金属迁移转化研究[J]. 中国给水排水, 2012, 28(21): 79–81.
- HUANG Wei-fei, SHU Ying-gang, CAI Lu, et al. Migration and transformation of heavy metals in sewage treatment system coupled with tubifex[J]. *China Water and Wastewater*, 2012, 28(21): 79–81.
- [28] 李玉, 高焕, 刘付程, 等. 海水养殖池沉积物中重金属形态和生物酶活性的关系研究[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(1): 84–90.
- LI Yu, GAO Huan, LIU Fu-cheng, et al. Correlation between speciation of heavy metal and enzymatic activity in surface sediment of mariculture pond[J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2016, 47(1): 84–90.
- [29] 岳中辉, 王博文, 王洪峰, 等. 松嫩平原西部退化盐碱草地土壤酶活性的季节动态[J]. 水土保持学报, 2008, 22(6): 162–165.
- YUE Zhong-hui, WANG Bo-wen, WANG Hong-feng, et al. Seasonal dynamics of soil enzymatic activities in West Songnen Alkali Degraded Grassland[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2008, 22(6): 162–165.
- [30] 徐晓玲. 几种有机固体废弃物蚯蚓堆肥过程中化学性质与酶活变化研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- XU Xiao-ling. Changes of chemical properties and enzyme activities during vermicomposting of several organic solid wastes[D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2018.
- [31] 黄伟飞, 舒英钢, 蔡璐, 等. 污水处理系统耦合水蚯蚓后的重金属迁移转化研究[J]. 中国给水排水, 2012, 28(21): 79–81.
- HUANG Wei-fei, SHU Ying-gang, CAI Lu, et al. Migration and transformation of heavy metals in sewage treatment system coupled with tubifex[J]. *China Water and Wastewater*, 2012, 28(21): 79–81.
- [32] 朱维琴, 贾秀英, 王玉洁, 等. 农业有机废弃物蚯蚓堆制因素优化及堆置产物主要形状变化特征[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(4): 77–82.
- ZHU Wei-qin, JIA Xiu-ying, WANG Yu-jie, et al. Optimization of factors in vermicomposting of agricultural organic wastes and variation of main properties of the compost[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2009, 25(4): 77–82.
- [33] 徐铁群, 封克, 王子波, 等. 城市生活污水污泥蚯蚓处理过程中相关酶活性的动态变化特征[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(5): 995–999.
- XU Yi-qun, FENG Ke, WANG Zi-bo, et al. Dynamic changes of sewage sludge enzyme activities during vermicomposting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(5): 995–999.
- [34] Kumar G, Bhunia G, Kumar S C. The effect of vermicompost and other fertilizers on cultivation of tomato plants[J]. *Journal of Horticulture and Forestry*, 2011, 2: 42–45.
- [35] 刘婷, 任宗玲, 张池, 等. 蚯蚓堆制处理对农业有机废弃物的化学及生物学影响的主成分分析[J]. 应用生态学报, 2012, 23(3): 779–784.
- LIU Ting, REN Zong-ling, ZHANG Chi, et al. Effects of composting with earthworm on the chemical and biological properties of agricultural organic wastes: A principal component analysis[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(3): 779–784.
- [36] Oo A N, Iwai C B, Saenjan P. Soil properties and maize growth in saline and nonsaline soils using cassava industrial waste compost and vermicompost with or without earthworms[J]. *Land Degradation and Development*, 2015, 26(3): 300–310.
- [37] 杨健, 易当皓, 赵丽敏, 等. 蚯蚓生物滤池处理剩余污泥的效果[J]. 中国环境科学, 2008, 28(10): 892–897.
- YANG Jian, YI Dang-hao, ZHAO Li-min, et al. Effect of excess sludge treatment in earthworm biofilter[J]. *China Environmental Science*, 2008, 28(10): 892–897.
- [38] 刘霞, 刘树庆, 王胜爱. 河北主要土壤中重金属镉、铅形态与土壤酶活性的关系[J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(1): 34–37.
- LIU Xia, LIU Shu-qing, WANG Sheng-ai. The relationship between heavy metal forms and soil enzymatic activities in the main soils of Hebei Province[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2002, 25(1): 34–37.
- [39] Aira M, Monroy F, Domínguez J. Changes in microbial biomass and microbial activity of pig slurry after the transit through the gut of the earthworm *Eudrilus eugeniae*[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2006, 42(4): 371–376.