

重金属 Cu 对堆肥过程中微生物群落代谢和水解酶活性的影响

郭星亮¹, 谷洁², 高华², 秦清军², 张卫娟², 李海龙², 陈胜男², 刘江¹,
张洪宾², 陈琳¹, 邵丽¹

(1. 西北农林科技大学理学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学资源与环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:为了探讨重金属 Cu 对堆肥过程的影响,以猪粪、麦秸、废菌糠为原料并接种复合微生物菌剂,在静态堆肥条件下,研究了 Cu 对堆肥过程中温度、微生物群落代谢能力和水解酶活性的变化。结果表明,CK 处理(不添加 Cu)高温期维持 5 d(其中 55℃以上维持 4 d)达到无害化的温度要求;添加 Cu 处理后,L 处理(Cu 浓度为 100 mg·kg⁻¹)高温期(>50℃)只持续 4 d;H 处理(Cu 浓度为 500 mg·kg⁻¹)在整个堆肥过程中只有 1 d 超过 55℃,高温期只维持 2 d,L、H 处理均未达到无害化的温度要求。以 Biolog 方法为主要检测手段并结合聚类分析和主成分分析方法,分析了重金属 Cu 对堆肥过程中微生物群落代谢能力的影响,结果表明,低剂量 Cu 能提高微生物群落对聚合物类碳源的转化与利用的能力,高剂量 Cu 对微生物群落利用中间代谢物和复杂大分子类碳源产生一定的抑制作用。水解酶活性分析结果表明,低剂量 Cu 对水解酶有一定的激活效应,高剂量 Cu 对水解酶有一定的抑制效应。

关键词: Cu; 高温堆肥; 微生物群落代谢; Biolog 方法; 聚类分析; PCA 分析; 水解酶

中图分类号: S141.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2011)02-0375-08

Effect of Heavy Metal Cu on Microbial Community Metabolic Profiles and Hydrolytic Enzyme Activities in Composting

GUO Xing-liang¹, GU Jie², GAO Hua², QIN Qing-jun², ZHANG Wei-juan², LI Hai-long², CHEN Sheng-nan², LIU Jiang¹, ZHANG Hong-bin², CHEN Lin¹, SHAO Li¹

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

Abstract: The objective of the study is to research the potential mechanism of heavy metal Cu on composting in high temperature and static state. An experiment was conducted with mixed materials of pig manure, wheat straw, spent mushroom substrate and microbial inoculants to study the effect of heavy metal Cu on temperature, microbial community metabolic profiles and hydrolytic enzyme during composting. The results indicated that CK(without Cu) treatment achieved the temperature requirement of harmlessness, and the high temperature lasted 5 d(of which more than 55℃ maintained 4 d). The high temperature phase(>50℃) of L treatment(The concentration of Cu was 100 mg·kg⁻¹) only lasted 4 d, the high temperature phase of H treatment(The concentration of Cu was 500 mg·kg⁻¹) lasted 2 d(of which exceeded 55℃ kept 1 d). The treatments of L and H didn't achieve the temperature requirement of the harmlessness. The effect of heavy metal Cu on microbial community metabolic profiles during composting was studied with Biolog method, and combined with cluster analysis and PCA. The results showed that the treatment of L could enhance the metabolic capability of amino acids and polymers, while the treatment of H had inhibition effect on the metabolic capability of polymers and intermediate metabolite. In addition, the L treatment could promote the activity of hydrolytic enzyme, however, the H treatment showed depression effect on them.

Keywords: Cu; high temperature composting; metabolism of microbial community; Biolog method; cluster analysis; PCA; hydrolytic enzyme

收稿日期: 2010-07-23

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

作者简介: 郭星亮(1985—), 男, 山西晋中人, 在读硕士, 研究方向为农业废弃物资源化利用。E-mail: guoxinliang666@163.com

通讯作者: 谷洁 E-mail: gujoyer@sina.com

畜禽粪便是一种重要的肥料资源, 畜禽粪便的肥料化与资源化利用, 是今后循环农业的主要研究方向^[1]。但是由于经济效益的需要, 养殖场常将 Cu、Zn 等微量元素添加在畜禽饲料中^[2], 而畜禽对这些重金属元素的吸收率很低, 大部分重金属(95%以上)都要随粪便排出体外^[3-4], 猪粪中 Cu 浓度范围为 12.1~1 742.1 mg·kg⁻¹^[5-7]。因而, 研究畜禽粪便中的重金属对堆肥过程的影响也成了实现环境友好型、可持续农业发展的必然要求。目前, 国内外有关畜禽粪便中重金属污染在堆肥中的研究主要集中在堆肥过程中重金属形态变化和重金属对堆肥微生物群落演替的影响方面。郑国砥等^[8]研究认为, 堆肥可以降低猪粪中重金属的有效性, 降低猪粪土地利用中的重金属风险。Liu Y 等^[9]研究认为, 重金属形态的变化与堆肥过程中有机质的变化和腐殖质的形成具有一定的相关性。曾伟等^[10]通过研究 Pb 污染对垃圾堆肥中微生物群落演替规律的影响认为, Pb 对微生物群落的影响, 在一次发酵初期表现最为明显, 随着堆肥过程的推进呈减缓趋势。但是, 关于重金属 Cu 对堆肥过程中微生物群落代谢能力和水解酶活性的影响鲜见报道。因此, 本试验研究猪粪中重金属 Cu 对堆肥过程中微生物群落代谢能力和水解酶活性的影响, 以期今后农业废弃物的处理提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用材料(表 1)为小麦秸秆、废菌糠(栽培香菇后的废料)、农家猪粪(农民以饲草和麦麸养猪, 不含饲料添加剂)、复合微生物菌剂。小麦秸秆、废菌糠、复合微生物菌剂由西北农林科技大学资环学院提供, 该菌剂由课题组筛选并通过鉴定^[11]。

表 1 试验材料基本参数

Table 1 Basic parameters of the compost materials						
试验材料	有机碳/ g·kg ⁻¹	全氮/ g·kg ⁻¹	全磷/ g·kg ⁻¹	全钾/ g·kg ⁻¹	全 Cu /mg·kg ⁻¹	C/N
废菌糠	346.9	4.6	2.1	2.98	0.73	75.4
小麦秸秆	394.32	5.74	0.47	27.39	0.97	68.7
猪粪	409.7	34.5	9.7	10.58	8.65	11.88

1.2 试验设计

本试验于 2010 年 4 月 2 日至 4 月 28 日在西北农林科技大学土壤肥料研究所堆腐试验场进行。首先将小麦秸秆切成 3~5 cm, 然后与猪粪、废菌糠粉末混合, 调节 C/N 为 30:1^[12], 加水调节含水率至 65%^[12], 随

后接种微生物菌剂。根据畜禽粪便中 Cu 含量状况^[5-7]及本课题组前期试验结果, 本试验共设 3 个处理: 处理 I 不添加重金属 Cu(简称 CK 处理); 处理 II 添加 CuSO₄ 溶液使 Cu 在堆料(干基)中的含量为 100 mg·kg⁻¹(简称 L 处理); 处理 III 添加 CuSO₄ 溶液使 Cu 在堆料(干基)中的含量为 500 mg·kg⁻¹(简称 H 处理), 以模拟 Cu 污染猪粪堆肥。将以上 3 种不同处理的堆料(堆料总重量均为 50.8 kg)分别装入堆肥装置中(图 1)。堆料不同部位插有温度探头(温度传感器), 并与自动记录仪连接, 原位测量和记录堆肥过程中堆料的温度变化, 定期从堆肥装置的中部采集样品, 进行堆料理化特征和水解酶活性的测定, 并对第 0、1、3、7、11、22 d 样品进行 Biolog 检测。

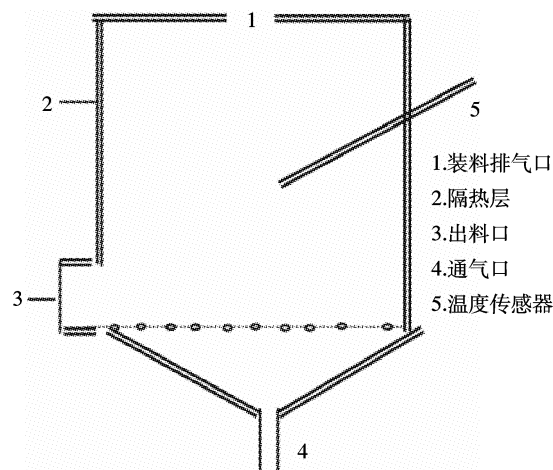


图 1 静态堆肥装置图

Figure 1 Diagram of static composting device

1.3 堆腐装置

静态堆肥装置^[1,13,21]由 3 个高 1.0 m, 内径 0.6 m, 外径 0.7 m 的圆柱形发酵罐组成, 发酵罐外壳由双层不锈钢构成, 层间有 0.5 cm 厚的保温材料, 底部为带有小孔的不锈钢圆板, 堆料混匀置于其上。外界空气从罐底部进入, 通过圆板的透气小孔进入罐内, 穿过堆料后从上部排出。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 理化指标和水解酶活性的测定

温度用 ZDR-11 型温度记录仪, 装入堆料时安放传感器探头于固定位置, 自动记录温度动态变化。水解酶的测定参考关松荫的方法^[14], 其中蛋白酶活性是在样品中加入酪素后培养, 使酪素在蛋白酶的作用下分解为多肽, 多肽进一步水解为氨基酸, 测定氨基酸生成量以表征蛋白酶活性, 活性单位用 mg·g⁻¹·d⁻¹ 表

示。脲酶活性测定是在样品中加入尿素后培养,使尿素在脲酶作用下水解为氨,测定氨量以表征其活性,单位用 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 表示。以上单位均为约定单位。每个处理均设无基质对照,且每个处理3次重复,整个试验设无样品无基质对照。堆料中有机碳用重铬酸钾法,全氮用凯氏法,全磷用钒钼黄比色法,全铜采用 $\text{HCl}+\text{HNO}_3+\text{HClO}_4$ 消化、原子吸收分光光度计测定,全钾用火焰光度计法测定^[15]。

1.4.2 微生物群落生理轮廓(CLPPs)测定

取5 g堆肥样品加入装有45 mL无菌生理盐水的三角瓶中, $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡1 h获得堆料表面和内部的微生物悬浮液,静置片刻后取上清液,采用10倍稀释法,将其用无菌生理盐水稀释至浓度为 10^{-3} 。在超净工作台上,接种微生物悬浮液于ECO微平板(ECO MicroPlate,美国Marix Technologies Corporation生产)中,每孔150 μL 。将接种的ECO板装入聚乙烯盒中置于28 $^{\circ}\text{C}$ 暗箱培养;连续培养240 h,每12 h在ELISA微平板读数器上读数一次以采集数据^[16]。

1.5 数据分析方法

72 h的读数结果用平均色度值校正后,用于聚类分析和主成分分析。数据的统计分析采用Excel(V2003)、SAS(V8.1)、Sigma Plot(V8.0)、SPSS(16.0)软件完成。

2 结果与讨论

2.1 堆肥过程中温度的变化

温度是影响静态好氧堆肥进程的重要因素。根据堆料在堆肥过程中温度的变化将堆肥过程分为4个时期:升温期(由常温升到50 $^{\circ}\text{C}$)、高温期(50~70 $^{\circ}\text{C}$)、降温期(<50 $^{\circ}\text{C}$)、腐熟保肥期(堆内温度稍高于室内温度)^[1]。堆温的高低会影响微生物的种类和数量^[17]。

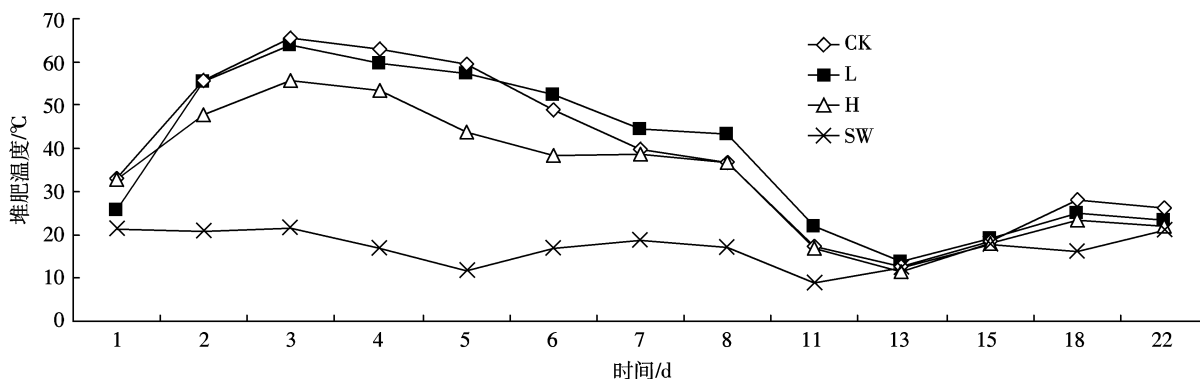
我国《农业废弃物无害化处理标准》规定:在50~55 $^{\circ}\text{C}$ 以上持续5~7 d(或55 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保持3 d以上)即可杀灭病原微生物,实现无害化。

图2为3种不同处理下静态好氧堆肥过程中温度变化曲线,从图中可以看出3种堆体升温过程及高温期差异较大。CK处理第2 d达到55 $^{\circ}\text{C}$,第3 d达到最高温63.9 $^{\circ}\text{C}$,高温期维持5 d(其中55 $^{\circ}\text{C}$ 以上维持4 d)达到无害化温度要求。L处理第2 d达到55 $^{\circ}\text{C}$,第3 d达到最高温65.7 $^{\circ}\text{C}$,与CK处理同时达到高温期,但是高温期只维持4 d,H处理在整个堆肥过程中只有1 d超过55 $^{\circ}\text{C}$,高温期只维持2 d,L、H处理均未达到无害化的温度要求。可能是由于低剂量重金属处理对微生物群落活性有一定的激活效应^[18],其代谢过程产生了较多的水,在6~11 d期间,3种处理平均含水率分别为(0.60 $\pm$ 0.048)、(0.705 $\pm$ 0.054)、(0.628 $\pm$ 0.064),L处理含水率显著大于CK、H处理,从而导致L处理高温期较CK处理短;而高浓度的重金属对微生物和酶活性有一定程度的抑制作用^[14,19],从而导致H处理高温期最短。

2.2 堆肥过程中微生物群落代谢的变化

2.2.1 重金属Cu对堆肥过程中微生物群落代谢能力影响的聚类分析

堆肥化是在微生物代谢活动及其分泌的胞外酶的作用下完成矿质化和腐质化作用进而实现无害化、减量化、资源化^[20-22]。研究微生物群落代谢功能特性有助于了解Cu对堆肥过程中有机质降解与转化能力的影响。Biolog微平板上的碳源按照化学性质分为6大类:氨基化合物类、氨基酸类、糖类、羧酸类、双亲化合物类、聚合物类。但是,在整个堆肥过程中微生物群落发生复杂的变化,传统的化学分类无法反映微生物群落对不同碳源的相似利用^[23]。为了获得3种不同处



SW 是室温 Note: SW is the temperature of laboratory.

图2 堆肥过程中温度的变化

Figure 2 Variations of temperature during composting

理准确的微生物群落碳源代谢特征,本试验对 3 处理中的 31 种碳源实施聚类分析将具有相似代谢特性碳源进行重新分类。

由图 3 可以看出,当聚类距离 ≤ 10 时,CK、L 处理的微生物群落代谢方式分为 7 类,H 处理群落代谢方式分为 6 类。H 处理比 CK、L 处理少一类,可见高剂量 Cu 对堆肥过程中微生物群落的代谢方式产生了一定的抑制效应。从聚类结果可以看出,3 个处理中 1-磷酸葡萄糖、 α -D-乳糖、N-乙酰-D 葡萄糖氨、 β -甲基-D-葡萄糖苷均被聚为同一类,其中 3 种是糖类碳源。而双亲化合物 1-磷酸葡萄糖又是葡萄糖磷酸化的产物,是一种重要代谢中间物。因此,可以推断

这类碳源应该是堆腐过程中微生物代谢利用的基础碳源,这也与微生物以糖类作为基础代谢碳源的这一基本特征相吻合。

从聚类分析结果还可以看出,当聚类距离 ≤ 5 时,CK、L 处理中各有 4 类碳源被单独聚为一类,CK 处理中为 2-羟基苯甲酸、肝糖、腐胺、衣康酸,L 处理中为 D-葡萄糖胺酸、D-纤维二糖、D,L- α -磷酸甘油、腐胺。而 H 处理中有 5 类碳源被单独聚为一类,它们分别是 D-甘露醇、D-苹果酸、D-葡萄糖胺酸、吐温 40 以及 D,L- α -磷酸甘油。分析上述结果可知,L 处理被单独聚为一类的碳源均为代谢中间物,CK、H 处理除小分子代谢中间物外,还含有聚合物类微生物较难降解

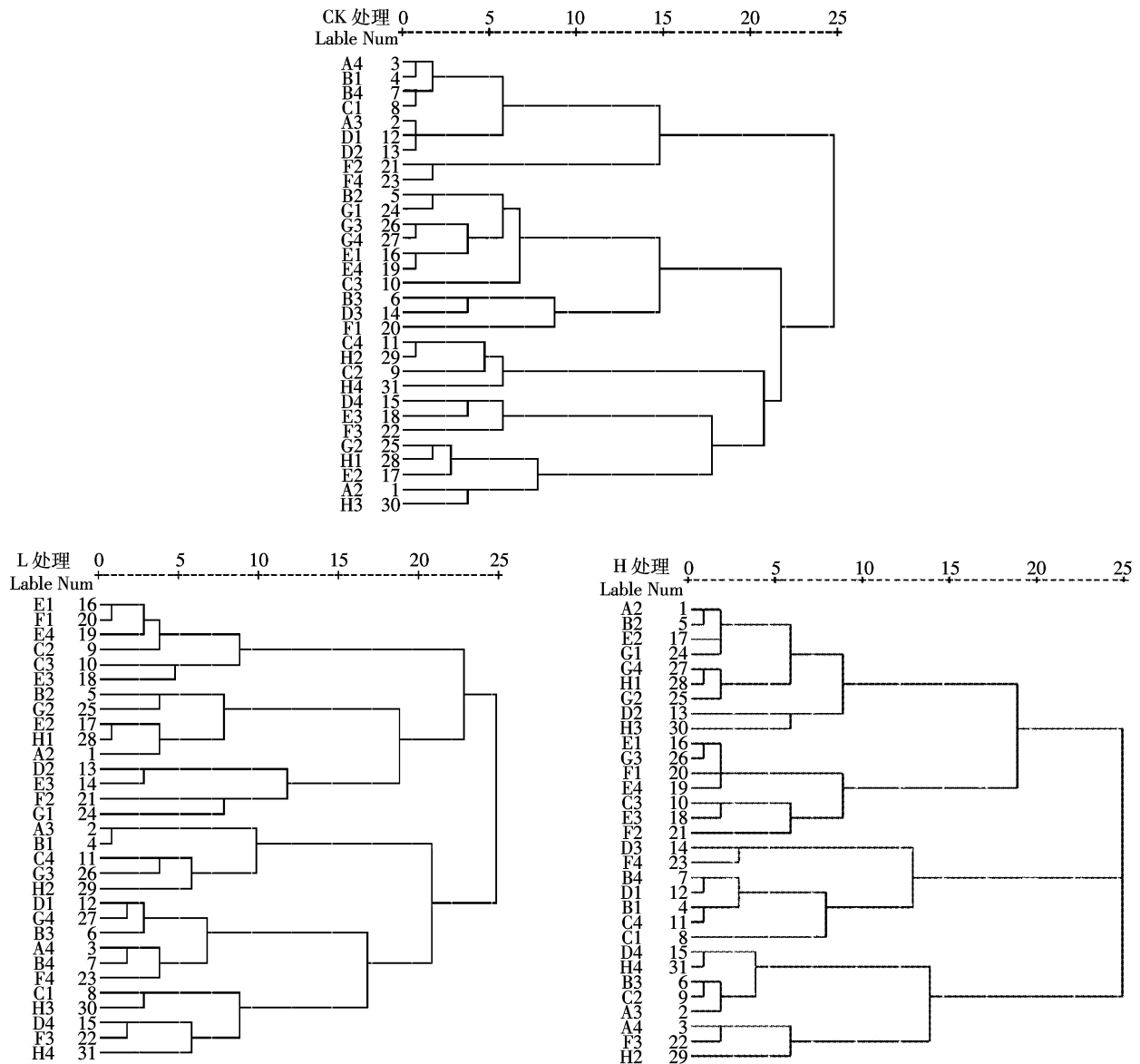


图 3 堆肥过程中 31 种碳源聚类分析图

Figure 3 Dendrogram from average linkage cluster between 31 carbon substrates

的大分子。分析可知,低剂量 Cu 处理提高了微生物群落对聚合物类碳源的转化与利用的能力;而高剂量铜处理对微生物群落利用中间代谢物和复杂大分子类碳源产生一定的抑制作用,这可能是由于添加重金属 Cu 改变了堆肥过程中的微生物群落组成,进而造成了微生物群落对碳源的差异利用。

2.2.2 重金属 Cu 对堆肥过程中微生物群落代谢能力影响的 PCA 分析

对 Biolog ECO 微平板数据进行统计分析发现,堆料中微生物对 ECO 微平板上的碳源均有代谢能力,但是不同碳源的吸光度值差异明显,这说明堆肥过程中微生物对碳源的利用能力是不同的。为了清晰地了解重金属 Cu 对堆肥过程中微生物群落代谢能力影响,对 Biolog 所得数据进行标准化处理,实施主成分分析(PCA)。提取 3 个处理中可以聚集单一碳源变量的数据变异的前两个主成分(PC1/PC2),它们的累积方差贡献率分别为 73.87%、66.06%、70.33%。由此可以认为这两个主成分可以表征堆肥过程中微生物群落代谢能力的基本轮廓。因此,提取 31 种碳源在 2 个主成分上的因子载荷图来分析这 31 种碳源在不同处理中的代谢特征。

由图 4 可以看出,CK 处理中 PC1 在氨基化合物类(苯乙胺)、聚合物类(吐温 80)、糖类(D-木糖/戊醛糖、 α -D-乳糖)等碳源种类上有较高载荷。这表明堆肥过程中微生物群落比较偏好氨基化合物及聚合物类碳源,进一步说明微生物群落对复杂大分子有很好的降解效果。L 处理中影响 PC1 的除了氨基化合物类(苯乙胺)、聚合物类(吐温 80)、糖类(N-乙酰-D 葡萄糖氨、D-纤维二糖)外,还增加了氨基酸类碳源(甘氨酸-L-谷氨酸)。这表明堆肥过程中微生物群落不仅偏好氨基化合物及聚合物类碳源,而且对中间代谢物类碳源也有很好的利用,进一步说明 L 处理中微生物群落不仅对复杂大分子有很好的降解效果而且基础代谢也比较活跃。这可能是由于低剂量 Cu 对微生物活性具有一定的激活效应^[18]。H 处理中 PC1 只在双亲化合物(1-磷酸葡萄糖、丙酮酸甲酯),氨基酸类(L-精氨酸、L-苯丙氨酸),糖类(β -甲基-D-葡萄糖苷、D-木糖、D-纤维二糖)等碳源种类上有较高载荷,而在氨基化合物及聚合物类碳源上载荷较低。这表明堆肥过程中微生物群落对氨基化合物及聚合物类碳源的利用能力较低,进一步说明微生物群落对复杂大分子的降解效果较差,这可能是由于高剂量 Cu 对微生物和水解酶活性产生了抑制效应^[19]。

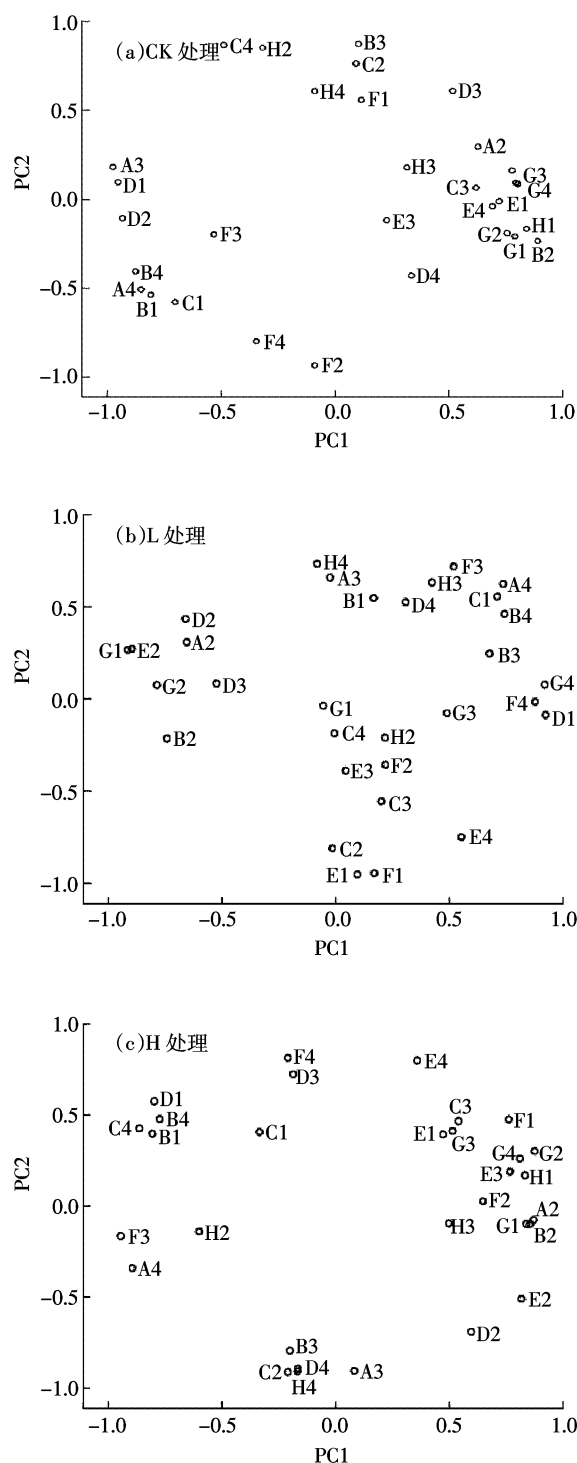


图 4 堆肥过程中碳源代谢特性的主成分分析

Figure 4 Principal component analysis of community metabolism during composting process

CK 处理中影响 PC2 的以氨基酸类碳源(L-苯丙氨酸、甘氨酸-L-谷氨酸)、羧酸类碳源(D-半乳糖醛酸、D-葡萄糖胺酸)、双亲化合物类碳源(D, L- α -磷酸甘油)为主,而 L 处理中影响 PC2 的除了羧酸类(D-

半乳糖酸 γ -内酯、衣康酸、D-苹果酸)碳源外,还增加了氨基化合物类碳源(腐胺)、聚合物类(α -环式糊精、肝糖)。H 处理中 PC2 在氨基酸类(L-苏氨酸、甘氨酸-L-谷氨酸),羧酸类(4-羟基苯甲酸、D-半乳糖酸 γ -内酯)上载荷较高,而在氨基化合物类、聚合物类碳源上载荷较低。分析 3 种处理中 6 类碳源在 PC2 上的载荷可知,低剂量 Cu 刺激了微生物对氨基化合物及聚合物等复杂大分子的利用,高剂量 Cu 则对微生物利用氨基化合物及聚合物等复杂大分子产生抑制效应,这与 PC1 分析结果及聚类分析得出的结论一致。

2.3 堆肥过程中水解酶活性的变化

农业废弃物的堆腐由矿质化和腐殖化两过程完成。矿质化是由微生物分泌的胞外水解类酶的作用下将复杂的有机物分解为简单的有机和无机小分子的过程。水解酶活性的强弱对矿质化的进程和强度起决定性作用^[20-22]。

2.3.1 堆肥过程中蛋白酶活性的变化

蛋白酶参与了有机物料中存在的氨基酸、蛋白质

以及其他含蛋白质氮的有机化合物的转化,其活性大小与微生物分布数量相关^[14]。

堆肥过程中蛋白酶活性的变化见图 5。堆肥初期(1~2 d)随着堆温的上升,L、H 处理蛋白酶活性呈上升趋势,CK 呈下降趋势。这可能是堆肥初期物料中含有较高的有机质将 Cu 螯合起来使其有效性降低^[8],L、H 处理中 Cu^{2+} 浓度正好处于激活效应的范围。至第 3 d,3 处理堆温达到峰值 63.88、65.7、55.68 $^{\circ}\text{C}$,蛋白酶活性 CK 处理升至 2.13 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,L、H 降至 1.96、1.81 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。第 4~7 d,L 处理先升后降但一直高于其他处理,CK、H 处理呈下降趋势但变化比较平缓,L 处理显著高于 H 处理($F=5.8, P<0.05$),3 处理蛋白酶平均活性分别为 (1.83 ± 0.20) 、 (2.04 ± 0.21) 、 (1.62 ± 0.08) $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。第 8 d,3 处理蛋白酶活性开始上升,在第 13 d 出现峰值,随后急剧下降,CK、L、H 处理在第 22 d 均降至 2.33 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 附近。降温期 3 种处理纤维素酶酶活性平均值分别为 (2.52 ± 0.28) 、 (2.91 ± 0.56) 、 (2.32 ± 0.17) $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。在降温期蛋白酶活性 L 处理最高、H 处理最低,可能是因为 L 处理浓缩了 Cu 的

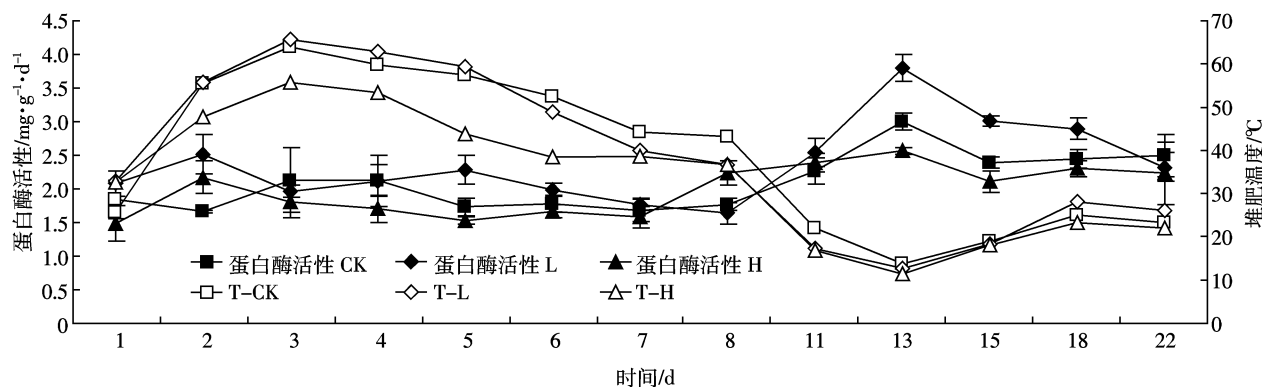


图 5 堆肥过程中蛋白酶活性的变化

Figure 5 Variations of protein enzyme activity during the composting process

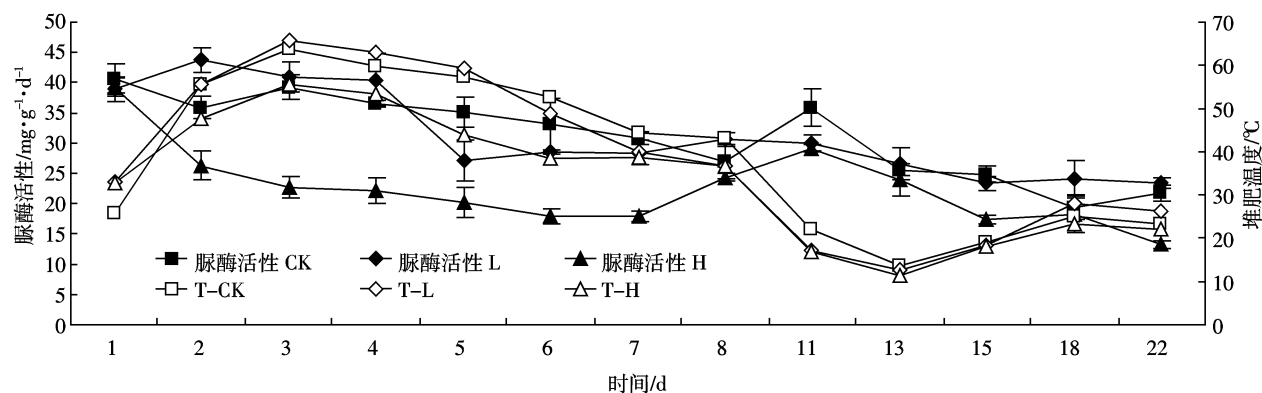


图 6 堆肥过程中脲酶活性的变化

Figure 6 Variations of urease enzyme activity during the composting process

浓度仍在蛋白酶的激活范围。在整个堆肥过程中蛋白酶平均活性分别为: (2.10 ± 0.41) 、 (2.38 ± 0.59) 、 $(1.98 \pm 0.37) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, L 处理蛋白酶活性最高, H 处理最低。由此可见, 在整个堆肥过程中低剂量 Cu 对蛋白酶表现出激活效应; 高剂量 Cu 对蛋白酶则表现出抑制效应, 影响了蛋白质的分解利用。

2.3.2 堆肥过程中脲酶活性的变化

脲酶能催化酰胺化合物转化为氨, 与农业废弃物堆腐过程氮代谢密切相关^[22,24]。由图 6 可见, 在整个堆肥过程中 3 个处理脲酶活性总体呈下降趋势。堆腐初期(1~4 d)CK 处理呈先降后升再降的趋势, L 处理呈先升后降的趋势, H 处理持续下降, 3 处理平均酶活性分别为 (38.09 ± 2.25) 、 (39.80 ± 4.15) 、 $(26.09 \pm 5.12) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, L 处理最高, H 处理最低, 而且 H 处理与 CK、L 处理间差异极显著 ($F=8.24, P<0.01$)。可能是由于堆肥初期 L 处理中有机物料将 Cu 螯合, 生物有效性较高的水溶态和可交换态 Cu^{2+} 浓度正好处于激活范围^[8,16], 而 H 处理中重金属浓度较高产生了抑制效应^[17]。随着堆肥进程的推进, CK、H 处理在第 11 d 达到峰值 35.89 、 $29.11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, L 处理在第 8 d 达到峰值 $30.60 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。第 11 d 后 3 处理脲酶活性均呈下降趋势。在整个堆肥过程中脲酶平均活性分别为: (31.21 ± 6.87) 、 (31.36 ± 6.91) 、 $(22.05 \pm 5.43) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, L 脲酶活性最高, H 处理最低。从整个堆肥过程来看, 在整个堆肥过程中低剂量 Cu 对脲酶表现出激活效应, 促进了酰胺化合物转化, 高剂量 Cu 则表现出抑制效应, 减缓了酰胺化合物转化进程。

3 结论

(1) 在整个堆肥过程中, CK 处理达到了无害化的温度要求, L、H 处理均未达到无害化的温度要求。

(2) 低剂量 Cu 刺激了堆肥过程中微生物群落对堆料中聚合物类等复杂大分子碳源的利用; 而高剂量 Cu 对堆肥过程中微生物群落利用聚合物类等复杂大分子碳源产生抑制效应。

(3) 堆肥过程中, 低剂量 Cu 对水解酶有一定的激活效应; 高剂量 Cu 对水解酶有一定的抑制效应。

参考文献:

- 谷洁, 李生秀, 秦清军, 等. 氧化还原酶活性在农业废弃物静态高温堆腐过程中变化的研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(2): 138-141.
GU Jie, LI Sheng-xiu, QIN Qing-jun, et al. Changes of oxidization and reduction enzymes of agricultural waste materials during composting at high temperature and static state[J]. *Transactions of the CSAE*, 2006, 22(2): 138-141.
- 李鹏, 齐光海. 饲料添加剂的使用安全研究进展[J]. 饲料工业, 2006, 27(18): 7-10.
LI Peng, QI Guang-hai. Progress in study of the safety of animal feed additives use[J]. *Feed Industry*, 2006, 27(18): 7-10.
- 闫秋良, 刘福柱. 通过营养调控缓解畜禽生产对环境的污染[J]. 家畜生态, 2002, 23(3): 68-70.
YAN Qiu-liang, LIU Fu-zhu. Reduction environmental pollution of animal production by adjustment of nutrition[J]. *Ecology of Domestic Animal*, 2002, 23(3): 68-70.
- 任顺荣, 邵玉翠, 王正祥. 利用畜禽废弃物生产的商品有机肥重金属含量分析[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊): 216-218.
REN S R, SHAO Y C, WANG Z X. Analyze on heavy metals content of merchandise compost produced by animal wastes[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2005, 24(Suppl): 216-218.
- Hsu J H, Lo S L. Effect of composting on characterization and leaching of copper, manganese, and zinc from swine manure[J]. *Environ Pollut*, 2001, 114(1): 119-127.
- 李书田, 刘荣乐, 陕红. 我国主要畜禽粪便养分含量及变化分析[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(1): 179-184.
LI Shu-tian, LIU Rong-le, SHAN Hong. Nutrient contents in main animal manures in China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(1): 179-184.
- 姜萍, 金盛杨, 郝秀珍, 等. 重金属在猪饲料-粪便-土壤-蔬菜中的分布特征研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(5): 942-947.
JIANG Ping, JIN Sheng-yang, HAO Xiu-zhen, et al. Distribution characteristics of heavy metals in feeds, pig manures, soils and vegetables[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(5): 942-947.
- 郑国砥, 陈同斌, 高定, 等. 好氧高温堆肥处理对猪粪中重金属形态的影响[J]. 中国环境科学, 2005, 25(1): 6-9.
ZHENG Guo-di, CHEN Tong-bin, GAO Ding, et al. Influence of high temperature aerobic composting treatment on the form of heavy metals in pig manure[J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(1): 6-9.
- Liu Y, Ma L, Li Y, et al. Evolution of heavy metal speciation during the aerobic composting process of sewage sludge[J]. *Chemosphere*, 2007, 67(5): 1025-1032.
- 曾炜, 曾光明, 黄丹莲, 等. 铅污染对垃圾堆肥中微生物群落演替规律的影响[J]. 中国环境科学, 2007, 27(6): 727-732.
ZENG Wei, ZENG Guang-ming, HUANG Dan-lian, et al. Influence of Pb on microbial community, succession in waste composting [J]. *China Environmental Science*, 2007, 27(6): 727-732.
- 李鸣雷, 谷洁, 高华, 等. 一种农业废弃物除臭菌剂及其产品的制备方法[P]. 专利号: CN1810295, 2006.
LI Ming-lei, GU Jie, GAO Hua, et al. Produce method and microorganism agent for removing odors from agricultural wastes [P]. Chinese Patent: CN1810295, 2006.
- 曹慧玲, 王琦, 胡青平, 等. 添加复合菌剂好氧发酵牛粪生产生物肥料的工艺优化[J]. 农业工程学报, 2009, 25(1): 189-193.
CAO Hui-ling, WANG Qi, HU Qing-ping, et al. Optimized technology for aerobic fermentation of dairy manure to produce bioorganic fertilizer by inoculating compound microbes[J]. *Transactions of the CSAE*, 2009,

- 25(1):189-193.
- [13] 孙利宁, 谷洁, 高华, 等. 氧化还原类酶活性在小麦秸秆静态高温堆肥过程中的变化[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(5): 1042-1047.
- SUN Li-ning, GU Jie, GAO Hua, et al. Changes of the activity of oxidation-reduction wheat straw during composting at high temperature and static state[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(5): 1042-1047.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 243-277.
- GUAN Song-yin. Soil enzymes and methodology[M]. Beijing: Agric. Publishing House, 1986: 243-277.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 432-437.
- BAO Shi-dan. Analysis of soil and agrochemicals[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000: 432-437.
- [16] A T Classen, S I Boyle, K E Haskins, et al. Hart, community-level physiological profiles of bacteria and fungi: Plate type and incubation temperature influences on contrasting soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 44(3): 319-328.
- [17] 史殿龙, 张志华, 李国学, 等. 堆高对生活垃圾中 15 mm 筛下物堆肥腐熟的影响[J]. 农业工程学报, 2010, 26(1): 324-329.
- SHI Dian-long, ZHANG Zhi-hua, LI Guo-xue, et al. Effect of stacking height on maturity during composting of municipal solid waste under 0-15 mm sieved[J]. *Transactions of the CSAE*, 2010, 26(1): 324-329.
- [18] Huang Q, Shindo H. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilised acid phosphatase[J]. *Soil Biol Biochem*, 2000, 32: 1885-1892.
- [19] Acosta-Martínez V, Tabatabai M A. Arylamidase activity in soil: Effect of trace elements and relationships to soil properties and activities of amidohydrolases[J]. *Soil Biol Biochem*, 2001, 33: 17-23.
- [20] 谷洁, 李生秀, 秦清军, 等. 水解类酶活性在农业废弃物静态高温堆腐过程中的变化[J]. 中国农学通报, 2005, 25(5): 32-35.
- GU Jie, LI Sheng-xiu, QIN Qing-jun, et al. Changes of some hydrolase activities during agricultural waste materials composting in high temperature and static state[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 25(5): 32-35.
- [21] 陈胜男, 谷洁, 高华, 等. 微生物菌剂对小麦秸秆和尿素静态堆腐过程的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(3): 198-201.
- CHEN Sheng-nan, GU Jie, GAO Hua, et al. Effects of microbial inoculants on wheat straw and urea during composting at static state[J]. *Transactions of the CSAE*, 2009, 25(3): 198-201.
- [22] 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.
- [23] 郁红艳, 曾光明, 习兴梅, 等. 蔬菜-秸秆废物堆肥化中细菌群落变化研究[J]. 微生物学报, 2007, 47(1): 98-102.
- YU Hong-yan, ZENG Guang-ming, XI Xing-mei, et al. Analysis of bacterial community in vegetable and straw wastes composting by biolog method[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2007, 47(1): 98-102.
- [24] Benitez E, Nogales R, Elvira C, et al. Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludge composting with *Eisenia foetida*[J]. *Bioresource Technology*, 1999, 67(3): 297-303.