

## 研究报告

## 中药渣半透膜好氧堆肥效能分析及功能微生物群落结构解析

崔迪<sup>\*1,2</sup>, 卫浩<sup>1</sup>, 李亚慧<sup>1</sup>, 程喜铭<sup>1</sup>, 武小琪<sup>1</sup>, 辛国松<sup>\*1,2</sup>, 官文静<sup>1</sup>, 李昂<sup>3</sup>

1 哈尔滨商业大学药物工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

2 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

3 哈尔滨工业大学环境学院 城市水资源与水环境国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150090

崔迪, 卫浩, 李亚慧, 程喜铭, 武小琪, 辛国松, 官文静, 李昂. 中药渣半透膜好氧堆肥效能分析及功能微生物群落结构解析[J]. 微生物学通报, 2024, 51(6): 1917-1933.

CUI Di, WEI Hao, LI Yahui, CHENG Ximing, WU Xiaoqi, XIN Guosong, GONG Wenjing, LI Ang. Semipermeable membrane aerobic composting of Chinese medicine residues: performance and functional microbial community structure[J]. Microbiology China, 2024, 51(6): 1917-1933.

**摘要:**【背景】我国每年会产生大量的中药废弃物, 不仅浪费药材, 更会引起环境的污染。因此, 利用半透膜好氧堆肥技术发酵中药渣, 是一条行之有效的解决固体废弃物排放问题和实现中药废弃资源的再生价值、可持续发展的方法。【目的】探索中药渣半透膜好氧堆肥工艺和适宜的中药渣发酵的 C/N, 结合堆肥中的微生物群落结构变化规律, 探讨功能微生物与堆肥过程的关系。【方法】以中药渣为主要堆肥原料, 以牛粪为辅料, 利用高通量测序技术揭示堆肥过程中的微生物群落结构动态演替规律, 考察堆肥期间堆体温度、C/N、含水率、pH、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、总养分和种子发芽指数等指标变化与功能微生物之间的动态关系, 验证中药渣堆肥对药用植物板蓝根和蒲公英种子萌发的有效性和安全性。【结果】C/N 为 25 的中药渣堆肥高温期超过 7 d, 而且含水率显著降低, pH 随着发酵时间的延长逐渐呈现出碱性特征, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量为 78.8 mg/kg (<400 mg/kg), 总养分为 5.48%>5%, 中药渣堆肥种子发芽指数(germination index, GI)达到 161.34%, 符合有机肥料标准。因此, 利用半透膜堆肥技术发酵中药渣, C/N 为 25 的中药渣堆肥效果优于 C/N 为 20、30 和 35 的堆肥情况, 堆体高温发酵过程中细菌以赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)和 unclassified\_f\_\_Rhizobiaceae 为主要功能菌群, 真菌以嗜热链球菌属(*Mycothermus*)和曲霉菌属(*Aspergillus*)为主要功能菌群, 且获得的中药渣堆肥有利于板蓝根和蒲公英种子的萌发。【结论】本研究结果不仅为进一步研究微生物与不同类型中药渣堆肥的作用机制提供了理论依据, 更为解决中药废弃物有效资源化的问题提供了参考, 拓展了半

资助项目: 黑龙江省自然科学基金(LH2021E091); 2021 年哈尔滨商业大学教师创新项目支持计划

This work was supported by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (LH2021E091) and the Foundation for Innovation of Harbin University of Commerce in 2021.

\*Corresponding authors. E-mail: CUI Di, jscz\_dd@hotmail.com; XIN Guosong, 13766801150@163.com

Received: 2023-12-02; Accepted: 2024-01-15; Published online: 2024-03-12

透膜好氧堆肥工艺在环境污染治理领域的应用。

关键词：中药渣；半透膜；好氧堆肥；微生物群落结构；效能分析

## Semipermeable membrane aerobic composting of Chinese medicine residues: performance and functional microbial community structure

CUI Di<sup>\*1,2</sup>, WEI Hao<sup>1</sup>, LI Yahui<sup>1</sup>, CHENG Ximing<sup>1</sup>, WU Xiaoqi<sup>1</sup>, XIN Guosong<sup>\*1,2</sup>, GONG Wenjing<sup>1</sup>, LI Ang<sup>3</sup>

1 Pharmaceutical Engineering Technology Research Center, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, Heilongjiang, China

2 Engineering Research Center of Natural Anti-tumor Drugs, Ministry of Education, Harbin 150076, Heilongjiang, China

3 State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, School of Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, Heilongjiang, China

**Abstract: [Background]** A large amount of Chinese medicine residues is produced every year in China, which not only wastes medicinal materials but also causes environmental pollution. Semipermeable membrane aerobic composting of Chinese medicine residues is an effective method to address the solid waste and realize the regeneration value and sustainable development of Chinese medicine waste resources. **[Objective]** To explore the composting process and the suitable C/N ratio of Chinese medicine residues for fermentation, and reveal the relationship between functional microorganisms and composting process based on the changes of microbial community structure during the composting process. **[Methods]** Chinese medicine residues were composted with cow dung as the auxiliary materials, and the 16S rRNA gene high-through sequencing was employed to disclose the succession of microbial community structure during the composting process. The temperature, C/N ratio, moisture content, pH,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , total nutrients, and seed germination index were measured, and their relationship with the changes of functional microorganisms was explored. Furthermore, the Chinese medicine residue fertilizer was applied to the seeds of the medicinal plants *Isatis indigotica* and dandelion, and the seed germination was examined to verify the performance and safety of the fertilizer. **[Results]** The high-temperature period of Chinese medicine residue composting with a C/N ratio of 25 exceeded 7 days. With the extension of fermentation time, the moisture content significantly decreased and the pH gradually increased. The obtained fertilizer showed the  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  content of 78.8 mg/kg (<400 mg/kg), total nutrient content of 5.48% (>5%), and the germination index (GI) reaching 161.34%, which met the standards of organic fertilizer fermentation. The composting performance of Chinese medicine residues with the C/N ratio of 25 was better than that with the C/N ratios of 20, 30, and 35. During the high-temperature fermentation of the pile, *Lysinibacillus* and unclassified\_f\_Rhizobiaceae were the dominant bacteria and *Mycothermus* and *Aspergillus* were the dominant fungi. Moreover, the obtained

fertilizer promoted the seed germination of *I. indigotica* and dandelion. **[Conclusion]** The results of this study not only provide a theoretical basis for further research on the mechanism of microbial compost and different types of Chinese medicine residue compost, but also provide a reference for solving the problem of effective resource utilization of Chinese medicine waste, and expand the application of semi-permeable membrane aerobic compost process in the field of environmental pollution control.

**Keywords:** Chinese medicine residue; semipermeable membrane; aerobic composting; microbial community structure; performance analysis

中药在我国有非常广泛的应用基础,是国家重要战略资源。目前,我国年均中药资源需求量可达上亿 t,而中药废弃物的排放量可高达 7 000 万 t<sup>[1]</sup>,其处理方式通常采用填埋、堆放或者焚烧的形式。这些处理途径能够有效处理药渣废弃物,同时也会造成中药资源的浪费,增加了碳排放量,容易引起二次污染,对生态环境造成新一轮危害,不利于我国在 2030 年之前实现“碳达峰”和 2060 年之前实现“碳中和”的目标<sup>[2]</sup>。因此,寻找推动中药资源循环高值利用、降低碳排放并有益环境生态保护的途径是解决中药行业发展瓶颈问题的办法之一。

堆肥是固废资源转化的有效方式之一且应用范围广泛。其中,半透膜好氧堆肥具有封闭供氧系统,能够降低堆体的厌氧发酵程度,且系统移动方便、成本较低,可缩短发酵周期、提升堆肥效率,具有较好的应用前景<sup>[3-8]</sup>。半透膜好氧堆肥在农业、畜牧业领域的应用较为广泛,在中药制药行业中的应用研究较少。因此,推动半透膜好氧堆肥技术在中药废弃物资源化方向的应用,可为提高中药资源产业的绿色可持续发展提供技术参考。

微生物作为好氧堆肥过程的主体,是堆肥快速腐熟和提高堆肥品质的关键因素<sup>[9]</sup>。堆肥条件和原料的差异决定了堆肥不同阶段功能微生物的种类和结构与温度、C/N、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 等堆肥指标的变化密切相关。此外,微生物在堆肥

过程中对物质转化以及病原菌的灭活均有积极作用<sup>[10]</sup>。从微生物角度出发,探究已知中药渣好氧堆肥过程中的功能微生物群落结构变化规律对好氧堆肥不同阶段的影响,不仅利于提高堆肥的效率和品质,更有助于加快中药废弃物的有效资源化进程。

因此,本研究利用半透膜好氧堆肥技术,以中药渣为堆肥基质,牛粪为辅助氮源,构建中药渣半透膜好氧堆肥发酵系统;探究不同 C/N 的堆体在堆肥过程中的理化因素和微生物群落结构之间的关系;选取板蓝根和蒲公英两种药用植物辅助验证不同堆体肥料的安全性和有效性;利用高通量测序技术对不同 C/N 堆体的不同阶段进行功能微生物群落结构解析,分析各堆体微生物种类和结构的差异性;为实现中药废弃资源的再生价值、减少环境污染提供技术储备和参考,为实现中药资源产业的低碳高效发展、实现碳达峰和碳中和的目标奠定基础<sup>[11]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 中药渣堆肥样品采集

新鲜药渣取自黑龙江中医药大学附属第二医院煎药房,主要以川芎、茯苓、太子参、甘草、黄芪和黄芩为原料,辅以瓜蒌、黄柏、生姜等多味中药渣组成。牛粪购自河南驻马店专业养殖合作社。中药渣初始含水率为 87.6%,

碳含量占 43.9%, 氮含量占 1.23%, C/N 为 35.6。牛粪碳含量占 18.12%, 氮含量占 1.26%, C/N 为 14.4。

### 1.1.2 主要试剂和仪器

氯化铵, 西陇科学股份有限公司; 重铬酸钾, 哈尔滨化学试剂厂; 纳氏试剂、酒石酸钾钠和硝酸钾, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 高氯酸、浓硝酸和浓硫酸, 天津市天力化学试剂有限公司。

半透膜孔径为 0.25–0.35  $\mu\text{m}$ , 黑龙江吉纳森生物工程股份有限公司; 沉降式离心机, Sigma 公司; 超低温冰箱, NBS 公司; 电子天平, 北京赛多利斯天平有限公司; pH 计, 梅特勒-托利多仪器有限公司; 紫外分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; PCR 仪, ABI 公司。

### 1.1.3 堆肥装置

半透膜好氧堆肥装置如图 1 所示。设计长、宽、高为 53 cm×35 cm×25 cm; 在装置内套上一层塑料薄膜防止水分流失; 半透膜盖在装置上方, 半透膜与箱体衔接处压实密封; 在装置

一侧连接固定通气软管, 便于装置内部每日定时通气, 通气量为 5 L/min; 堆肥期间, 每 7 d 翻堆一次, 确定物料充分反应, 并适时补水, 保证堆体含水率维持在 50%–70%。堆肥样品采集周期为每隔 1 d 取样一次, 直到发酵结束。

## 1.2 方法

### 1.2.1 中药渣半透膜好氧堆肥物料比

根据中药渣堆肥样品采集时测定的 C/N 和含水率, 通过控制投放的物料来控制不同堆肥样品的 C/N, 并设计 4 组中药渣混合牛粪堆肥实验, 如表 1 所示。

### 1.2.2 中药渣半透膜好氧堆肥指标检测

堆肥过程中检测的指标包括温度、含水率、pH、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、C/N、总养分、种子发芽指数和堆肥对药用种子萌发的影响等<sup>[9]</sup>。每日定时测量堆体的上层、内部和底部温度, 将 3 个温度的平均值作为堆体温度<sup>[12]</sup>; 含水率指标采用烘干的方法测定<sup>[13]</sup>; pH 采用 pH 计进行测定<sup>[14]</sup>;  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  采用纳氏试剂分光光度法测定氨氮浓度的变化<sup>[15]</sup>; C/N 检测用元素分析法<sup>[16]</sup>; 总养分检测时精确称取 0.5 g 堆肥干样品, 放入锥形瓶

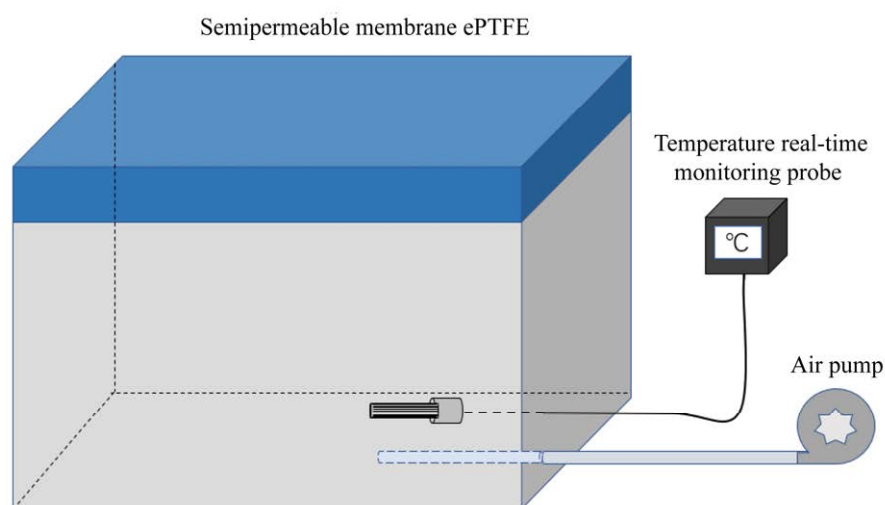


图 1 半透膜好氧堆肥装置

Figure 1 Semi permeable membrane aerobic composting device.

表 1 中药渣混合牛粪堆肥的物料投比

Table 1 Material ratio of traditional Chinese medicine residue mixed with cow manure composting

堆肥序号 Pile number	中药渣 Traditional Chinese medicine residue (kg)	牛粪 Cow manure (kg)	C/N	含水率 Moisture content (%)
1	3.30	9.10	20	70.10
2	7.59	7.41	25	70.30
3	14.05	5.05	30	70.10
4	25.60	0.80	35	70.50

中,将样品用水浸湿后缓慢加入硫酸进行消解,冷却后定容至 100 mL,待测时稀释 50 倍。氮、磷、钾测定原理分别为奈氏比色法、钒钼黄比色法、四苯硼钾比浊法<sup>[17]</sup>;中药渣堆肥种子发芽指数(germination index, GI)采用纸巾培养法<sup>[18]</sup>;两种药用植物的生长指标(发芽率、发芽势和发芽指数)检测采用培养皿纸上发芽法<sup>[19]</sup>。

### 1.2.3 微生物群落结构解析

利用高通量检测技术对不同 C/N、不同堆肥时间的肥料样品进行微生物多样性检测<sup>[20]</sup>,分析不同堆肥条件和发酵过程中的优势菌群结构和主要特征。样品送至上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序,各堆体样品的采样时间与编号如表 2 所示,数理统计学分析用 Origin 2021 计算处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 中药渣半透膜好氧堆肥的效果分析

#### 2.1.1 不同 C/N 堆肥的 C/N 和温度变化

不同 C/N 堆体的堆肥过程变化如图 2A 所示, C/N 为 25、30 和 35 的堆体随着堆肥时间的延长而逐渐下降,这一现象符合好氧堆肥中药渣或者秸秆的研究结果<sup>[21-22]</sup>。一方面,堆体中有机质碳被微生物降解产生 CO<sub>2</sub> 挥发,造成碳的损失;另一方面,含氮的损失来自于氨、NO 和氮气的挥发,而碳损失的程度高于氮,所以 C/N

表 2 样品编号

Table 2 Sample number

样品编号 Sample number	取样时间 Sample time	C/N
A	初始期 A1 Initial period A1	20
	升温期 A2 Heating up period A2	
	高温期 A3 High temperature period A3	
	腐熟期 A4 Maturity stage A4	
B	初始期 B1 Initial period B1	25
	升温期 B2 Heating up period B2	
	高温期 B3 High temperature period B3	
	腐熟期 B4 Maturity stage B4	
C	初始期 C1 Initial period C1	30
	升温期 C2 Heating up period C2	
	高温期 C3 High temperature period C3	
	腐熟期 C4 Maturity stage C4	
D	初始期 D1 Initial period D1	35
	升温期 D2 Heating up period D2	
	高温期 D3 High temperature period D3	
	腐熟期 D4 Maturity stage D4	

的比值降低。C/N 为 20 的堆体基本无变化,可能是碳源不足导致微生物对有机质的利用程度较低,碳损失量少,致使 C/N 整体变化趋势不明显<sup>[23]</sup>。

图 2B 显示不同 C/N 堆肥过程中温度变化, C/N 为 20 的堆肥升温期的最高温度不超过 45 °C,碳源和氮源的不足可直接导致微生物无法有效利用中药渣进行发酵,微生物代谢活性较弱,因此无法升高堆体温度<sup>[24]</sup>。按照参考文献[25]的标准,堆肥高温期温度需在 50 °C 维持 5–10 d 方可达标。因此, C/N 为 20 的堆肥效果不符合标准。当 C/N 为 25、30 和 35 时,堆肥高温期温度都超过了 50 °C,其中 C/N 为 25 和 30 的 2 个堆体高温期超过了 7 d,说明 25 和 30 是适合中药渣好氧堆肥的 C/N 比例,这与关于中药渣好氧堆肥研究的适宜 C/N<sup>[22]</sup>较为相近。C/N 为 35 的高温期维持时间较短,推测其可能的原因是 C/N 过高导致微生物代谢活性受到抑制,导致其高温期较短<sup>[26]</sup>。

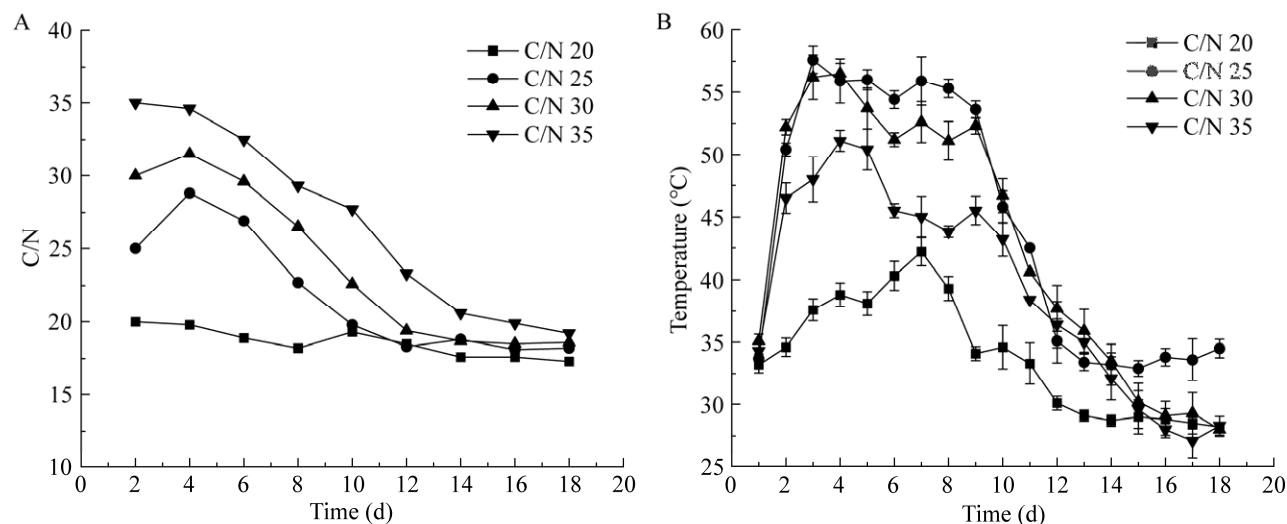


图2 中药渣半透膜好氧堆肥的 C/N 变化(A)和温度变化(B)

Figure 2 C/N changes (A) and temperature changes (B) of semi permeable membrane aerobic composting of drug residue.

### 2.1.2 不同 C/N 堆肥含水率和 pH 变化

不同 C/N 堆体堆肥进程中的含水率和 pH 如图 3 所示, 各组堆体的含水率变化幅度较大(图 3A), 其中 C/N 为 25 和 30 两组堆体在第 4 天的含水率达到最低, 分别为 55.6% 和 57.2%, 此时两组堆体温度分别高达 55.9 °C 和 56.5 °C。堆肥温度的迅速升高可直接导致堆体水分的快速蒸发, 而半透膜堆肥的优势不仅能保证氧气的流通, 更能有效阻挡堆肥过程水分的快速挥发。同时, 微生物代谢活性增强产生水的速度高于蒸发速度, 致使含水率再次提高。堆肥过程中堆体含水率过高或者过低都不利于堆肥的发生和微生物的活动<sup>[27]</sup>。各组堆体的含水率最终呈下降趋势, 其中 C/N 为 25 的中药渣堆体含水率下降最快, 堆肥的第 18 天, 含水率降低到 55.4%, 低于投加菌剂发酵的秸秆堆肥的含水率(59.7%), 且堆肥时间远少于秸秆堆肥的时间<sup>[21]</sup>。

pH 为中性或偏碱性的条件适于微生物生长和分解含氮物质, 生成  $\text{NH}_3$  和一些有机酸类

物质挥发<sup>[28]</sup>, 导致堆体 pH 在堆肥结束后呈现碱性特征。如图 3B 所示, 不同中药渣堆体堆肥过程中 pH 初始维持在 7.25–8.00, 随着发酵的进行, 各组堆体 pH 呈现上升趋势, 最终维持在 8.75 左右, 与现有报道研究结果<sup>[21]</sup>的趋势一致。

### 2.1.3 不同 C/N 堆肥的 $\text{NH}_4^+$ -N 和总养分变化

不同 C/N 堆体堆肥过程中的  $\text{NH}_4^+$ -N 和总养分如图 4A 和 4B 所示, 各组堆体  $\text{NH}_4^+$ -N 整体呈下降趋势, 代表了微生物同化堆体中的  $\text{NH}_4^+$  为有机氮的代谢合成产物, 或是转化生成  $\text{NO}_2^-$  和  $\text{NO}_3^-$ <sup>[29]</sup>, 而温度升高、微生物的代谢速率加快, 促进了堆体内部  $\text{NH}_4^+$  的快速转化。因此, 各组堆体在升温期和高热期阶段,  $\text{NH}_4^+$ -N 的下降幅度较大。在堆肥腐熟阶段 C/N 为 25、30 和 35 的  $\text{NH}_4^+$ -N 含量分别为 78.8、80.5 和 152.1 mg/kg, 均小于现有报道中的  $\text{NH}_4^+$ -N 含量 < 400 mg/kg 的成熟发酵标准<sup>[30]</sup>, C/N 为 25 的  $\text{NH}_4^+$ -N 含量低于 C/N 为 30 和 35 的堆体, 说明微生物对  $\text{NH}_4^+$  的利用程度更高。

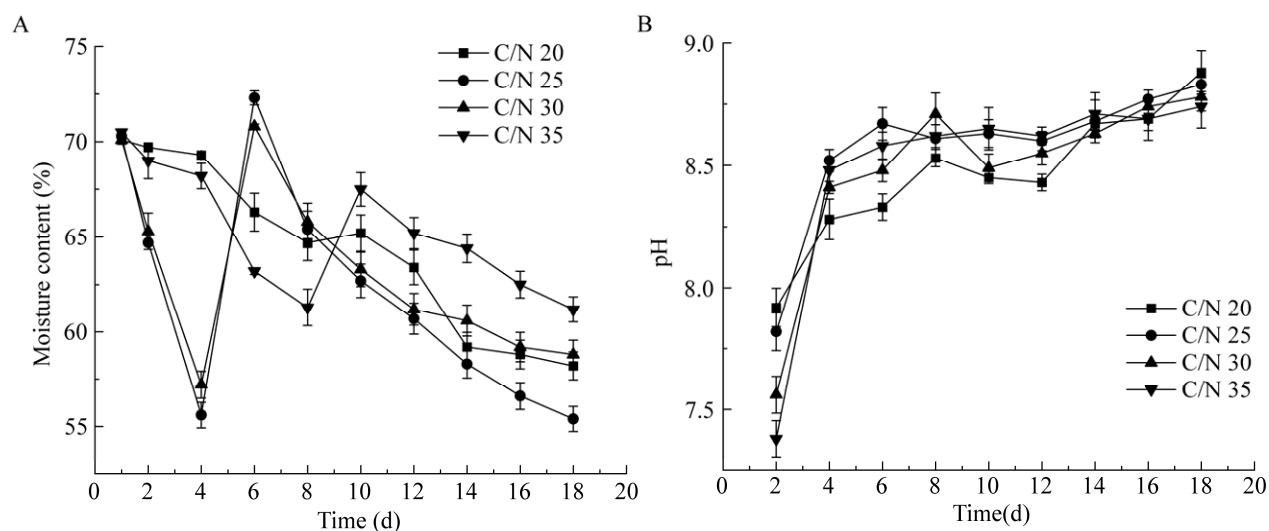


图3 中药渣半透膜好氧堆肥的含水率变化(A)和 pH 变化(B)

Figure 3 Water content changes (A) and pH changes (B) of semi permeable membrane aerobic composting of traditional Chinese medicine residue.

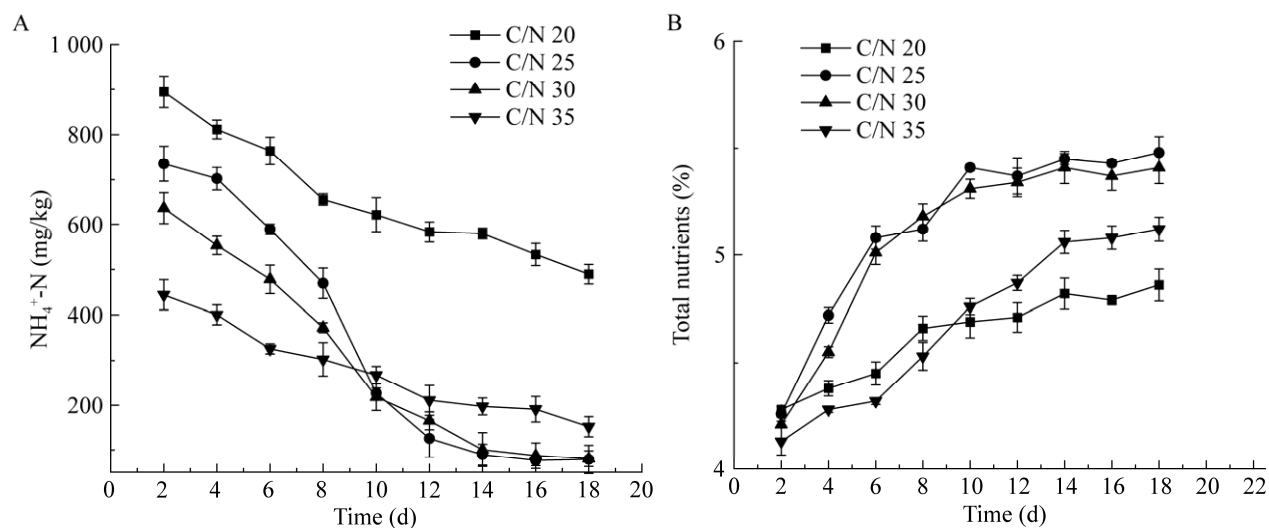


图4 中药渣半透膜好氧堆肥的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  变化(A)和总养分变化(B)

Figure 4 Changes in  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  (A) and total nutrients (B) in aerobic composting of traditional Chinese medicine residue with semi permeable membrane.

#### 2.1.4 不同 C/N 堆肥的 GI 变化

不同 C/N 堆体堆肥进程中的 GI 如图 5 所示, 4 组堆体的种子发芽指数均超过了《有机肥料标准》(NY 525—2021)  $\geq 70\%$  的标准<sup>[31]</sup>。C/N 为 25、30 和 35 的 GI 指标不断升高, 分别达到了

161.34%、147.21%和 142.33%。其中, C/N 为 25 的堆体堆肥效果最理想, 肥料毒害化较小。中药渣在堆肥发酵过程中经过微生物的作用可将堆体中的多酚、有机酸及  $\text{NH}_3$  吸收和转化, 从而达到降低植物毒性的目的<sup>[19,32]</sup>。C/N 为 20 的

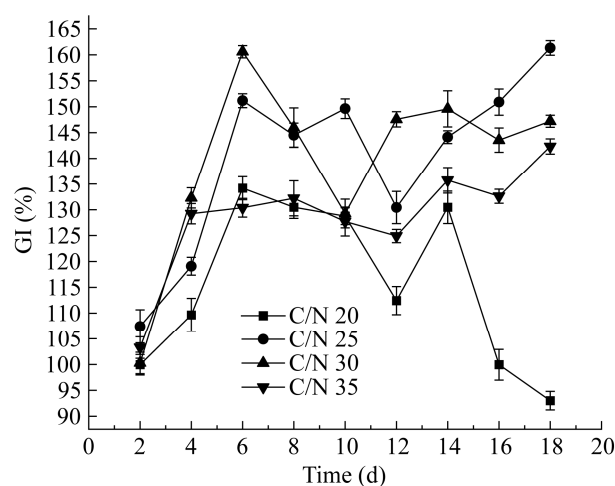


图5 中药渣半透膜好氧堆肥的种子发芽指数变化  
Figure 5 Changes in seed germination index of semipermeable membrane aerobic composting of traditional Chinese medicine residue.

GI指数随着发酵的进行,从99.94%降低到93.00%,毒性有逐渐增强的趋势,这与堆体发酵不成熟有直接关系<sup>[33]</sup>。

### 2.1.5 中药渣半透膜好氧堆肥对药用植物种子萌发的影响

根据中药渣半透膜好氧堆肥的效果分析,选取 C/N 为 25 和 30 的肥料作为药用植物生长的基质。中药渣堆肥对两种药用植物种子萌发的影响由表 3 可知,通过 C/N 为 25 的药渣肥料的水浸液培养,板蓝根和蒲公英的发芽率、发

芽势及发芽指数均高于 C/N 30 组,板蓝根的发芽率高达 56.33%,蒲公英的发芽率高达 36.33%,说明不同 C/N 堆体中的化学物质对药用植物的种子萌发具有不同程度的促进作用,加速了细胞的有丝分裂过程,提高了种子萌发的速率<sup>[34]</sup>。

## 2.2 不同 C/N 的中药渣半透膜好氧堆肥细菌微生物群落结构解析

### 2.2.1 不同 C/N 堆体的细菌群落结构特征

根据 16S rRNA 基因高通量测序结果可知(图 6A),不同 C/N 堆体堆肥过程中细菌门微生物群落结构的变化差异尤为明显,4 组堆体在堆肥初期(A1、B1、C1、D1)细菌微生物门群落结构相似,变形菌门(*Proteobacteria*)所占比例低于厚壁菌门(*Firmicutes*)和放线菌门(*Actinobacteriota*)。随着堆肥进入升温期 and 高温期阶段,变形菌门(*Proteobacteria*)微生物的含量迅速增加,其中 C/N 为 25 和 30 的堆体中变形菌门(*Proteobacteria*)微生物的含量分别增加了 33% 和 22%,C/N 为 25 的变形菌门(*Proteobacteria*)微生物的含量增加最多。同时,厚壁菌门(*Firmicutes*)和放线菌门(*Actinobacteriota*)微生物的含量大幅下降。这说明堆肥过程中的主要功能微生物来自于变形菌门(*Proteobacteria*)<sup>[35-36]</sup>,可加速堆体药渣中有机物的降解。

表 3 有机肥水浸液对药用植物种子萌发的影响

Table 3 Effect of organic fertilizer water extract on germination of medicinal plant seeds

植物 Plant	处理组 Processing group	发芽率 Germination rate (%)	发芽势 Germination potential (%)	发芽指数 Germination index (%)
板蓝根 <i>Isatis indigotica</i>	空白组 Blank	46.67	43.33	16.98
	对照组 Control group	48.00	46.67	17.48
	C/N25	56.33	54.67	23.17
	C/N30	44.00	34.00	15.39
蒲公英 Dandelion	空白组 Blank	20.00	14.33	8.11
	对照组 Control group	28.67	22.00	12.53
	C/N25	36.33	24.33	13.87
	C/N30	30.33	22.67	13.23



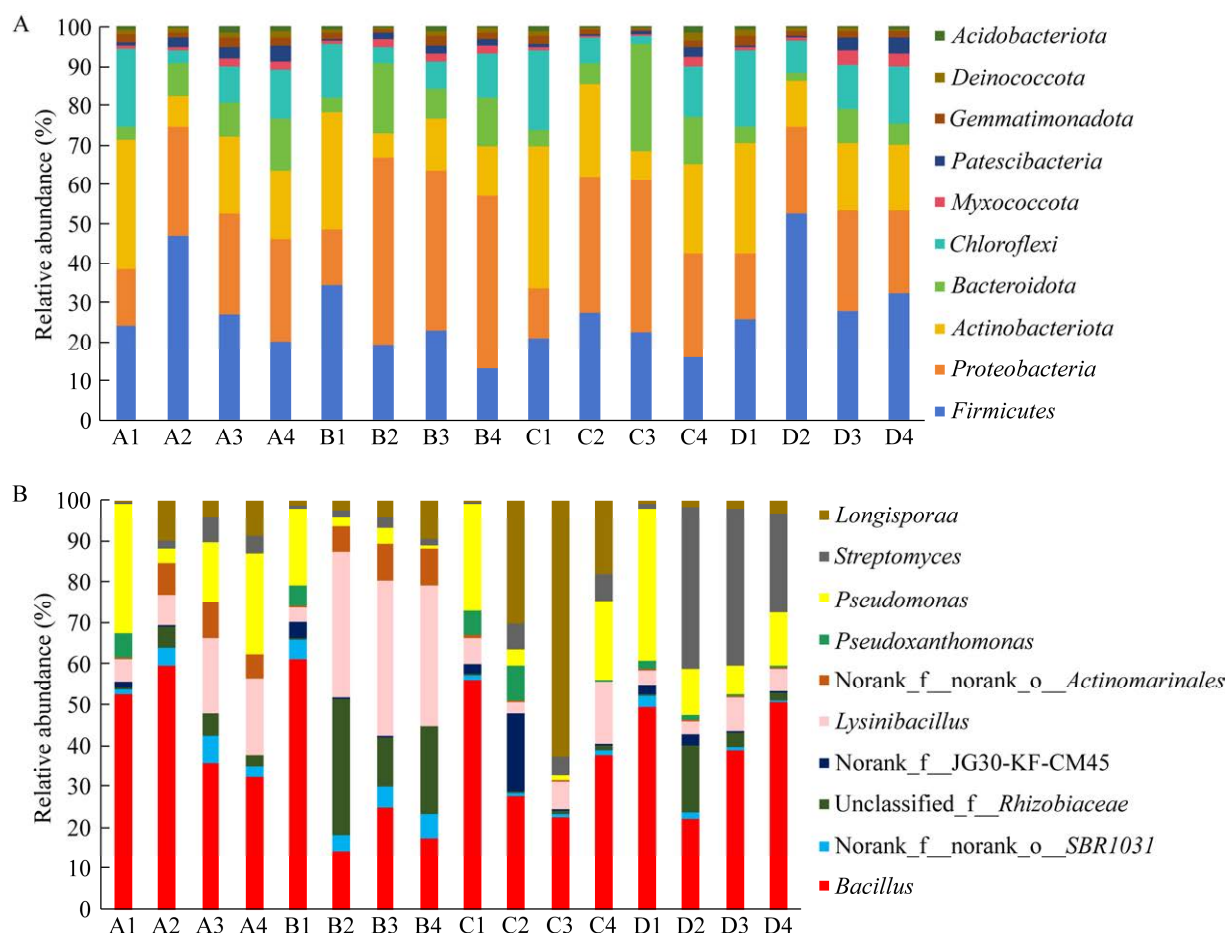


图 6 中药渣半透膜好氧堆肥门水平(A)和属水平(B)细菌微生物群落变化

Figure 6 Changes in bacterial and microbial communities at the phylum level (A) and genus level (B) of semi permeable membrane aerobic composting of traditional Chinese medicine residues.

深入分析 4 组不同 C/N 堆体中细菌微生物群落的属水平结构情况如图 6B 所示,芽孢杆菌属(*Bacillus*)、unclassified\_f\_*Rhizobiaceae*、赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)是主要细菌功能微生物类群。4 组堆体在堆肥初期微生物群落结构相似性高,随着堆肥温度的升高,C/N 为 25 和 30 堆体中微生物菌属结构变化较为相似,厚壁菌门(*Firmicutes*)中的芽孢杆菌属(*Bacillus*)相对丰度大幅下降,分别下降了 36%–47%和 18%–33%。C/N 为 25 堆体中赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)相对丰度上升了 31%–34%,变形菌门(*Proteobacteria*)的 unclassified\_

f\_*Rhizobiaceae* 相对丰度大幅提高,由 0.2%提高了 13%–33%。

### 2.2.2 不同 C/N 堆体的细菌群落结构多样性分析

图 7 是绘制的 4 个堆体和不同堆肥阶段样品的 Venn 图。图 7A 结果显示,虽然堆肥原料均为中药渣和牛粪,但是不同的 C/N 会使堆体间的细菌群落结构发生较大的改变。其中 A1–A4 (C/N 20)、B1–B4 (C/N 25)、C1–C4 (C/N 30)、D1–D4 (C/N 35)独有的菌群数目分别为 119、92、291、218 个。如图 7B 所示,观察发酵周期内各阶段的堆体样本可以发现,

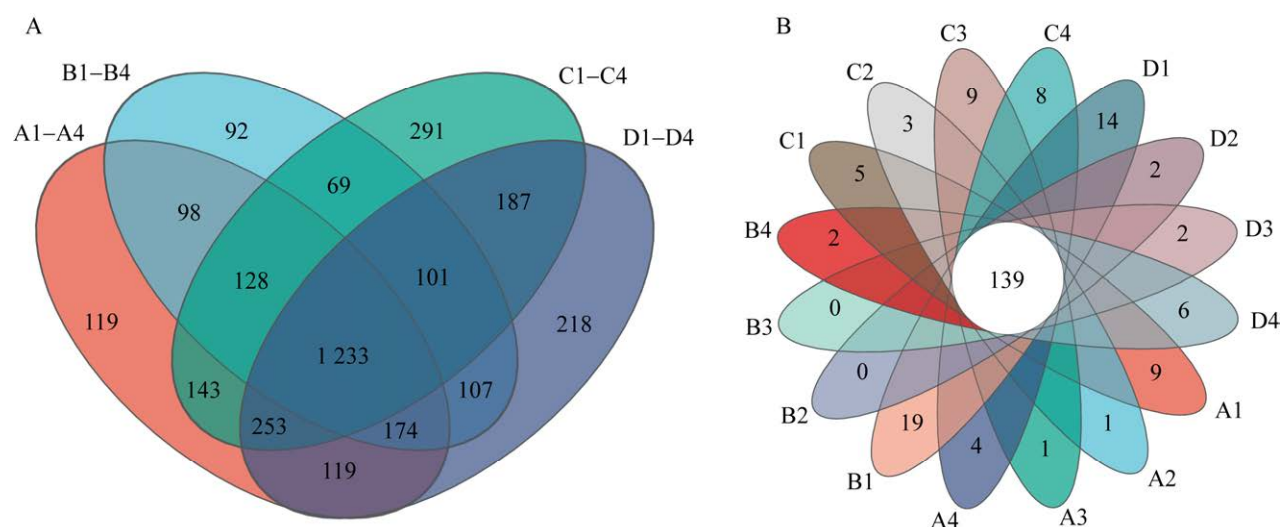


图 7 每个发酵堆体周期(A)和各个时期(B)的细菌群落结构 Venn 图

Figure 7 Venn diagram of bacterial community structure for each fermentation pile cycle (A) and different stages of each fermentation pile (B).

各堆体不同发酵阶段的独有样本菌群数量差距较小, 整体呈现先减少再增加的趋势。初始期独有菌群数目较多, 升温期及高温期时开始减少, 到腐熟期时独有菌群数目开始增多, 说明一些主要功能细菌大量增殖并且产生新的功能菌群。

不同堆体微生物多样性指数(ACE 指数、Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数)分析结果显示(表 4), 堆肥初期 4 组堆体的菌群丰富度和多样性高度相似, 当堆肥进入升温期、高温期, C/N 为 25 和 C/N 为 30 的堆体 Shannon 指数随着温度的升高而降低, 说明细菌多样性程度随着温度升高呈下降趋势。其中, C/N 为 25 堆体在高温期的温度和维持时间都高于其他 3 组堆体, 赖氨酸芽孢杆菌属 (*Lysinibacillus*) 和 *unclassified\_f\_Rhizobiaceae* 凸显了其耐高温的特性, 有利于中药渣发酵, 而高温也限制了部分微生物的活性, 导致多样性指标有所下降。

四组堆体细菌群落结构主坐标分析如图 8 所示, A1-D1 (初始期) 4 个点的距离较近, 说明

表 4 细菌样品多样性指数统计

Table 4 Statistics of bacterial sample diversity index

样品编号 Sample code number	ACE index	Chao1 index	Shannon index	Simpson index
A1	2 092.05	2 050.04	5.49	0.01
A2	1 337.93	1 146.28	4.84	0.02
A3	1 599.17	1 573.00	5.49	0.01
A4	1 795.73	1 942.51	5.74	0.01
B1	2 166.95	2 113.04	5.43	0.02
B2	877.42	878.54	4.49	0.03
B3	996.29	998.86	4.31	0.02
B4	1 055.91	1 061.42	4.98	0.02
C1	2 027.12	1 966.43	5.46	0.01
C2	2 108.90	1 845.55	5.22	0.01
C3	1 835.47	1 555.40	5.02	0.07
C4	2 098.95	2 079.14	6.05	0.01
D1	2 022.28	1 994.60	5.31	0.02
D2	1 406.35	1 440.67	4.94	0.02
D3	1 656.25	1 659.82	5.64	0.01
D4	1 923.84	1 902.28	5.77	0.01

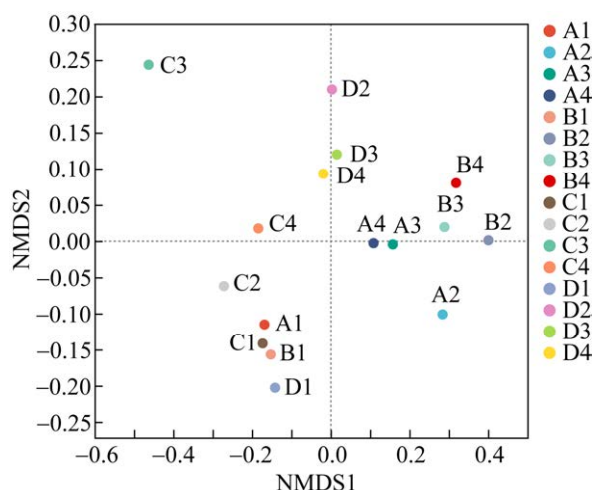


图 8 细菌 NMDS 分析图

Figure 8 Bacterial NMDS analysis chart.

4 组堆体堆肥初期细菌群落结构相似。升温阶段 A2–D2 逐渐远离初始点(A1–D1), 说明堆体的群落结构已经发生了改变, 其中 B2 距离 B1

最远。经过发酵, C/N 25 的功能细菌群落结构较为相似, 而 C/N 20 和 C/N 35 两组堆体因为 C 和 N 比例失衡不利于堆肥功能细菌的生长, 导致堆体高温期温度低、时间短, 发酵不完整, 中药渣堆肥不达标。C/N 30 堆体高温期 *Longispora* 的大量增殖导致菌群结构差异较大。

## 2.3 不同 C/N 的中药渣半透膜好氧堆肥真菌微生物群落结构解析

### 2.3.1 不同 C/N 堆体的真菌群落结构特征

根据真菌群落多样性检测结果(图 9)可知, 不同 C/N 堆体堆肥过程中真菌群落结构的变化差异尤为明显。4 组堆体在堆肥初期、升温期和高温期(A1、B1、C1、D1、A2、B2、C2、D2、A3、B3、C3、D3)真菌群落结构相似, 都是以子囊菌门(*Ascomycota*)为主, 随着发酵进入腐熟期, C/N 为 25 堆体的子囊菌门(*Ascomycota*)

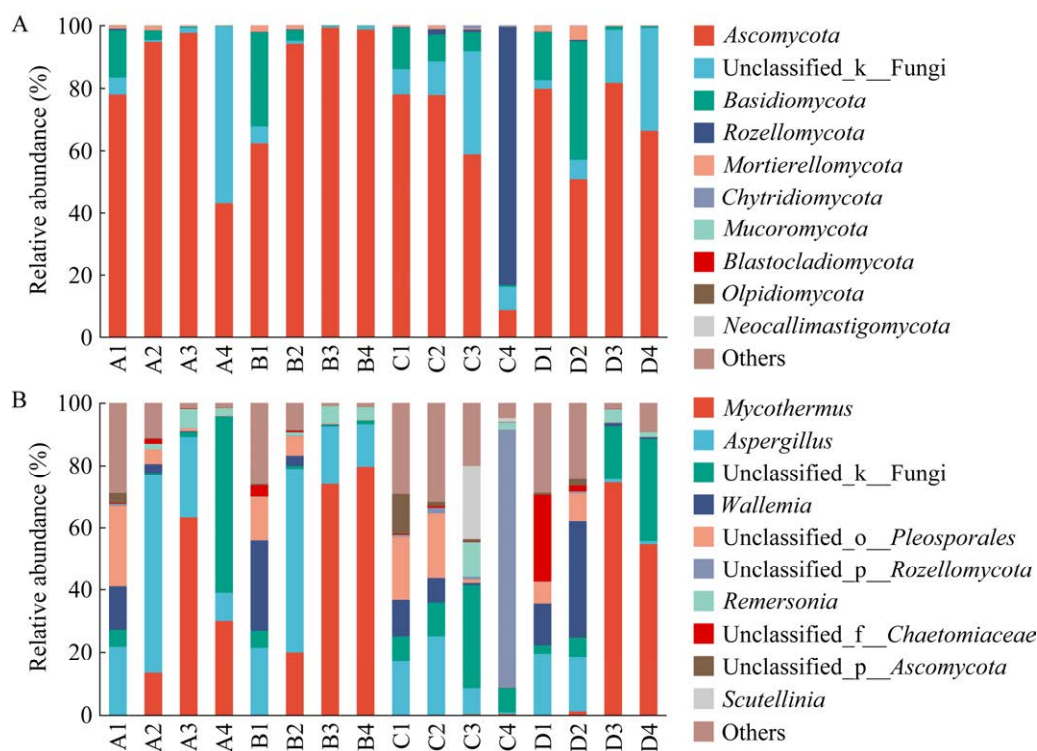


图 9 中药渣半透膜好氧堆肥门水平(A)和属水平(B)真菌群落变化

Figure 9 Fungal community changes at the phylum level (A) and genus level (B) of semi permeable membrane aerobic composting of traditional Chinese medicine residues.

未发生减少,而其余3组堆体的子囊菌门(*Ascomycota*)出现大幅下降,导致堆体腐熟不完全,由此可说明中药渣发酵堆肥中的子囊菌门(*Ascomycota*)存在有利于堆体的腐熟<sup>[37]</sup>。

### 2.3.2 不同 C/N 堆体真菌群落结构多样性分析

四组堆体真菌群落结构 Venn 图(图 10)所示,各堆体独有的真菌数量较多,其中 A1-A4 (C/N 20)独有的真菌有 95 个, B1-B4 (C/N 25)独有的真菌有 75 个, C1-C4 (C/N 30)独有的真菌有 194 个, D1-D4 (C/N 35)独有的真菌有 89 个。随着发酵的进行,真菌独有菌属的相对丰度呈下降趋势,堆体经过发酵大量的真菌菌群被淘汰。

四组堆体真菌  $\alpha$  多样性指数结果如表 5 所示,4 组堆体的 ACE、Chao1 和 Shannon 指数随着发酵的进行呈下降的趋势, Simpson 和 Shannon 的指标变化呈负相关,说明真菌菌群的相对丰度和多样性均有下降,这与温度的变化呈负相关。

四组堆体的 NMDS (图 11)结果显示,4 组堆体 A1、B1、C1、D1 距离较近,结构相似,

随着发酵的进行, C/N 为 20、C/N 为 25 和 C/N 为 35 在高温期和腐熟期结构较为相似,而 C/N 为 30 的真菌结构与其余 3 组堆体不同,验证了图 9 所示功能真菌以嗜热链球菌属(*Mycothermus*)和曲霉菌属(*Aspergillus*)为主的特征, C/N 为 25 堆体的真菌群落结构最为稳定。

## 3 讨论与结论

堆肥高温阶段堆体在含有芽孢杆菌属(*Bacillus*)组合菌剂的作用下氮元素可以稳定在堆肥底料中,也可提高磷含量<sup>[38]</sup>。参照《有机肥料标准》(NY 525—2021)中总养分>5%的标准<sup>[29,31]</sup>,中药渣堆肥初期含有的总养分低于 5%,4 组不同 C/N 堆体(20、25、30 和 35)堆肥结束后总养分分别为 4.86% (48.6 g/kg)、5.48% (54.8 g/kg)、5.41% (54.1 g/kg)和 5.12% (51.2 g/kg) (图 4B)。C/N 分别为 25、30 和 35 的半透膜好氧堆肥的中药渣总养分高于条垛式好氧堆肥的中药渣的总养分<sup>[22]</sup>,且 C/N 为 25 的堆体总养分最高,这与堆肥高温期增强功能微生物代谢活性有关<sup>[39]</sup>。

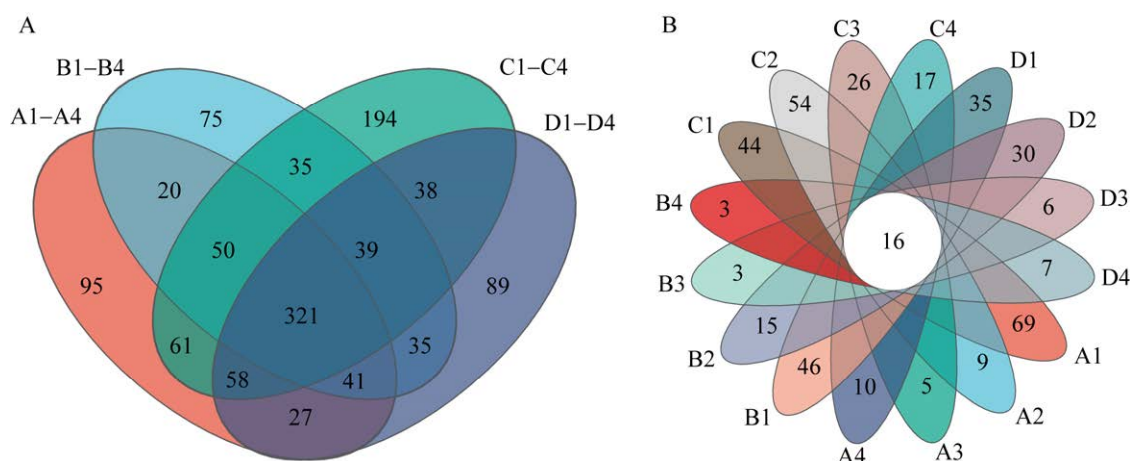


图 10 每个发酵堆体周期(A)和各个时期(B)的真菌群落结构 Venn 图

Figure 10 Venn diagram of fungal community structure for each fermentation pile cycle and different stages of each fermentation pile.



表 5 真菌样品多样性指数统计

Table 5 Diversity index of fungal

样品编号 Sample number	ACE index	Chao1 index	Shannon index	Simpson index
A1	648.24	631.57	3.41	0.09
A2	268.66	266.57	1.72	0.39
A3	203.27	193.67	1.17	0.46
A4	164.83	149.25	1.50	0.33
B1	609.89	590.21	3.34	0.08
B2	250.93	246.50	1.68	0.37
B3	163.36	127.40	0.85	0.58
B4	106.43	102.50	0.78	0.65
C1	550.10	551.68	3.44	0.07
C2	593.86	589.11	3.57	0.07
C3	412.76	408.00	3.30	0.09
C4	257.13	245.15	1.08	0.68
D1	491.20	493.32	2.95	0.12
D2	417.78	420.87	3.27	0.09
D3	262.52	249.63	1.29	0.56
D4	200.54	190.17	1.56	0.36

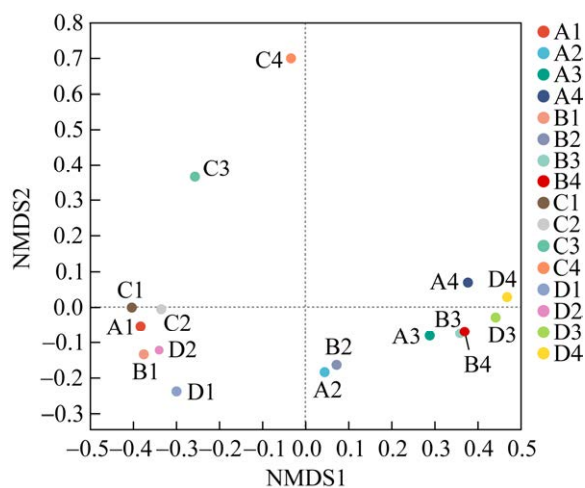


图 11 真菌 NMDS 分析图

Figure11 Fungal NMDS analysis chart.

结合堆肥发酵指标和细菌微生物群落结构,在发酵的起始阶段,4组堆体属水平的细菌微生物主要以芽孢杆菌属(*Bacillus*)为主,在此阶段4组堆体的温度、pH等一些理化指标基本相似,说明在此阶段芽孢杆菌属(*Bacillus*)等

一些嗜热菌是分解药渣和牛粪中的糖类、蛋白质等物质的主要菌属,分解过程产生  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ <sup>[40]</sup>,从而保证整个发酵体系的运行;随着发酵进入升温期、高温期和腐熟期,C/N为25的堆体温度迅速升高且维持的时间较长,pH也随之升高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量下降,在此阶段芽孢杆菌属(*Bacillus*)相对丰度下降,但赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)和 *unclassified\_f\_Rhizobiaceae* 相对丰度上升,pH上升和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  相对丰度下降,其原因可能为  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  被这两种微生物的硝化作用生成  $\text{NO}_x^-$  和  $\text{N}_x\text{O}$ <sup>[41]</sup>,  $\text{NO}_x^-$  会经过反硝化作用生成一氧化二氮和氮气排入大气;或者与被微生物利用转化生成有机氮有关;或者以  $\text{NH}_3$  形式排出,尤其是 *unclassified\_f\_Rhizobiaceae* 的作用更加明显。赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)会大量分解木质素、半纤维素和纤维素等物质<sup>[42]</sup>,为整个堆体提供大量的能量,因此,C/N为25的堆体在升温期和高温期温度较高且维持较长时间。C/N为20的堆体由于其氮元素含量较高,影响升温期和高温期的 *unclassified\_f\_Rhizobiaceae* 等部分菌属,导致其在升温期和高温期的  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  等大量氨类物质被分解不完全,造成堆体  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量较高、温度较低,堆体未能完成腐熟<sup>[41]</sup>。C/N为30和35的堆体中氮元素含量较低,赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)在发酵的升温期、高温期和腐熟期相对丰度也较低,因此导致堆体中的纤维素、半纤维素、木质素等物质降解不完全<sup>[19]</sup>,堆体发酵不完全,总养分偏低。

四组 C/N 堆体中真菌群落的属水平结构情况如图 9B 所示,四组堆体在发酵初期真菌群落结构相似,随着温度升高 C/N 为 20 和 25 的堆体中曲霉菌属(*Aspergillus*)和嗜热链球菌属(*Mycothermus*)相对丰度呈现明显急剧上升的趋势;对于未达到堆肥安全有效标准的 C/N 为 20、

30 和 35 堆体, 进入腐熟阶段真菌群落结构中均含有大量的 unclassified\_k\_\_Fungi, 而 C/N 为 25 堆体的嗜热链球菌属(*Mycothermus*)相对丰度占有绝对优势。在此群落结构中, 曲霉菌属(*Aspergillus*)能够将中药渣的铵态氮转化为硝态氮和菌体凯氏氮<sup>[43]</sup>, 嗜热链球菌属(*Mycothermus*)可产生耐热纤维素分解酶分解纤维素, 促进堆体的腐熟<sup>[44]</sup>。

(1) C/N 为 25 是中药渣半透膜好氧堆肥的最佳比例, 堆肥高温期超过 7 d, 堆体含水率降低, pH 呈碱性,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量为  $78.8 \text{ mg/kg} < 400 \text{ mg/kg}$ , 总养分为  $5.48\% > 5\%$ , GI 指数达到 161.34%, 并且中药渣堆肥对板蓝根和蒲公英两种药用植物的种子的萌发和生长起到促进作用, 拓展了半透膜好氧堆肥技术在中药废弃物资源化领域的应用。

(2) 四组堆体堆肥过程中芽孢杆菌属(*Bacillus*)相对丰度变化明显; 以芽孢杆菌属(*Bacillus*)、unclassified\_f\_\_Rhizobiaceae 和赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)为主的动态功能细菌菌群变化决定了 C/N 25 堆体堆肥效果最佳; 以嗜热链球菌属(*Mycothermus*)和曲霉菌属(*Aspergillus*)为主的功能真菌结构可消耗 C/N 为 25 的中药渣堆肥中的铵态氮和纤维素, 促进堆体的腐熟。

(3) 半透膜好氧堆肥中药渣过程中微生物起到重要作用, 后续要针对不同类型中药渣的抑菌性与微生物主导堆肥发酵的作用机制开展深入研究, 进一步明确中药渣残留成分与微生物的作用关系。

## REFERENCES

- [1] 秦梦, 黄璐琦, 裴林, 何培, 马宗敏, 刘佳. 中药废弃物的开发与利用[J]. 中国医药导报, 2017, 14(9): 38-41.  
QIN M, HUANG LQ, PEI L, HE P, MA ZM, LIU J. Utilization status of traditional Chinese medicine wastes[J]. China Medical Herald, 2017, 14(9): 38-41 (in Chinese).
- [2] WANG ZH, WANG SX, LI H, LU Y, ZHANG B, ZHANG HZ, ZHANG S. Synergistic effects of economic benefits, resource conservation and carbon mitigation of kitchen waste recycling from the perspective of carbon neutrality[J]. Resources, Conservation and Recycling, 2023, 199: 107262.
- [3] AGNEW JM, LEONARD JJ. The physical properties of compost[J]. Compost Science & Utilization, 2003, 11(3): 238-264.
- [4] 赵彬涵, 孙宪昀, 黄俊, 李少杰. 微生物在有机固废堆肥中的作用与应用[J]. 微生物学通报, 2021, 48(1): 223-240.  
ZHAO BH, SUN XY, HUANG J, LI SJ. Application and effects of microbial additives in aerobic composting of organic solid wastes: a review[J]. Microbiology China, 2021, 48(1): 223-240 (in Chinese).
- [5] MARI I, EHALIOTIS C, KOTSOU M, CHATZIPAVLIDIS I, GEORGAKAKIS D. Use of sulfur to control pH in composts derived from olive processing by-products[J]. Compost Science & Utilization, 2005, 13(4): 281-287.
- [6] JANCZAK D, MALIŃSKA K, CZEKAŁA W, CÁCERES R, LEWICKI A, DACH J. Biochar to reduce ammonia emissions in gaseous and liquid phase during composting of poultry manure with wheat straw[J]. Waste Management, 2017, 66: 36-45.
- [7] GAJALAKSHMI S, ABBASI SA. Solid waste management by composting: state of the art[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2008, 38(5): 311-400.
- [8] BERNAL MP, ALBURQUERQUE JA, MORAL R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment: a review[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(22): 5444-5453.
- [9] MA SS, SHEN YJ, DING JT, CHENG HS, ZHOU HB, GE MS, WANG J, CHENG QY, ZHANG DL, ZHANG Y, XU PX, ZHANG PY. Effects of biochar and volcanic rock addition on humification and microbial community during aerobic composting of cow manure[J]. Bioresource Technology, 2024, 391: 129973.
- [10] 汤江武. 猪粪好氧堆肥高效菌筛选、工艺优化及应用研究[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2008.  
TANG JW. Study on isolation of effective bacteria,

- optimization of fermentation and their applications in the aerobic composting of pigdung[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2008 (in Chinese).
- [11] 段金彪, 宿树兰, 郭盛, 朱华旭, 刘海峰, 赵明, 郭兰萍, 赵润怀, 黄璐琦. 面向“双碳”目标的中药资源全产业链废弃物及副产物循环利用与循环经济产业发展策略[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(17): 4545-4551. DUAN JA, SU SL, GUO S, ZHU HX, LIU HF, ZHAO M, GUO LP, ZHAO RH, HUANG LQ. Measures for waste and by-product recycling and circular economy of whole industry chain of traditional Chinese medicine resources facing carbon peak and carbon neutrality (dual carbon) goals[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2023, 48(17): 4545-4551 (in Chinese).
- [12] 斯琴毕力格. C/N 比对好氧堆肥过程中堆体内部主要指标变化的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2017. Siqinbilige. Effect of C/N ratio on the changes of main indexes inside the reactor during aerobic composting[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [13] ZAHRA K, FARHAN M, KANWAL A, SHARIF F, HAYYAT MU, SHAHZAD L, GHAFOR GZ. Investigating the role of bulking agents in compost maturity[J]. Scientific Reports, 2023, 13: 16003.
- [14] CHAND S, DEVI S, DEVI D, ARYA P, MANORMA K, KESTA K, SHARMA M, BISHIST R, TOMAR M. Microbial and physico-chemical dynamics associated with chicken feather compost preparation vis-à-vis its impact on the growth performance of tomato crop[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2023, 54: 102885.
- [15] SHEN C, SHANGGUAN HY, FU T, MI H, LIN H, HUANG LY, TANG JH. Electric field-assisted aerobic co-composting of chicken manure and kitchen waste: ammonia mitigation and maturation enhancement[J]. Bioresource Technology, 2024, 391: 129931.
- [16] LI DY, YUAN J, DING JT, WANG HH, SHEN YJ, LI GX. Effects of carbon/nitrogen ratio and aeration rate on the sheep manure composting process and associated gaseous emissions[J]. Journal of Environmental Management, 2022, 323: 116093.
- [17] WU YP, LI QF, ZHENG Y, XIONG XJ, CHEN YF, SHAABAN M, HU RG. Optimizing biochar addition for vermicomposting: a comprehensive evaluation of earthworms' activity, N<sub>2</sub>O emissions and compost quality[J]. Biochar, 2023, 5(1): 4.
- [18] KONG YL, ZHANG J, YANG Y, LIU Y, ZHANG LL, WANG GY, LIU GL, DANG RJ, LI GX, YUAN J. Determining the extraction conditions and phytotoxicity threshold for compost maturity evaluation using the seed germination index method[J]. Waste Management, 2023, 171: 502-511.
- [19] SCHERER MD, de OLIVEIRA AC, FILHO FJCM, UGAYA CML, MARIANO AB, VARGAS JVC. Environmental study of producing microalgal biomass and bioremediation of cattle manure effluents by microalgae cultivation[J]. Clean Technologies and Environmental Policy, 2017, 19(6): 1745-1759.
- [20] 施童, 陈杰, 亓传仁, 李国学, 罗文海, 徐志程. 农林废弃物对厨余垃圾堆肥腐殖化的影响与微生物驱动机制[J]. 农业工程学报, 2023, 39(13): 191-201. SHI T, CHEN J, QI CR, LI GX, LUO WH, XU ZC. Effects of agricultural and forestry wastes on humification and its microbially driven mechanisms in kitchen waste composting[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2023, 39(13): 191-201 (in Chinese).
- [21] 张秧, 艾为党, 靳向丹, 冯海燕, 张良长, 武重阳. 3 种菌剂对小麦秸秆好氧堆肥降解效果比较[J]. 环境工程学报, 2021, 15(2): 709-716. ZHANG Y, AI WD, JIN XD, FENG HY, ZHANG LC, WU CY. Comparison of the degradation effects of three microbial agents on aerobic composting of wheat straw[J]. Journal of engineering for the maritime environment, 2021, 15(2): 709-716 (in Chinese).
- [22] 宋修超, 黑若楠, 姚怡, 郭德杰, 罗佳, 马艳. 不同中药渣组合好氧堆肥产物对土壤碳矿化特性的影响[J]. 土壤, 2023, 55(1): 45-52. SONG XC, HEI RN, YAO Y, GUO DJ, LUO J, MA Y. The effect of aerobic composting products with different combinations of traditional Chinese medicine residues on soil carbon mineralization characteristics[J]. Soil, 2023, 55(1): 45-52 (in Chinese).
- [23] 曾兆宇. 餐厨垃圾小型化处理与工艺设计优化研究[D]. 淮南: 安徽理工大学硕士学位论文, 2023. ZENG ZY. Research on miniaturization treatment and process design optimization of kitchen waste[D]. Huainan: Master's Anhui University of Science and Technology, 2023 (in Chinese).
- [24] WANG WF, ZHAO ZQ, YANG J, LIAN XJ, XIE XJ, CHEN HY, WANG M, ZHENG HB. Application of oil-degrading agents consisted of thermophilic *Bacillus subtilis* and *Bacillus glycinifermentans* in food waste[J]. Environmental Technology, 2023: 1-11.

- [25] 中华人民共和国卫生部. 粪便无害化卫生标准: GB 7959—1987[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004: 1-16.  
Ministry of Health of the People's Republic of China. Sanitary STANDARD for the non-hazardous treatment of night soil: GB 7959—1987[S]. Beijing: Standards Press of China, 2004: 1-16 (in Chinese).
- [26] 郑捷翔. 林业废弃物堆肥技术及堆肥产品在果园地的应用效果[D]. 南京: 南京林业大学硕士论文, 2023.  
ZHENG JX. The application effect of forestry waste composting technology and composting products in orchard fields[D]. Nanjing: Master's Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [27] 田伟. 牛粪高温堆肥过程中的物质变化、微生物多样性以及腐熟度评价研究[D]. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2012.  
TIAN W. Study of substance change, microbial diversity and maturity assessment during thermophilic composting of dairy manure[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [28] ZENG Y, de GUARDIA A, ZIEBAL C, de MACEDO FJ, DABERT P. Impact of biodegradation of organic matters on ammonia oxidation in compost[J]. Bioresource Technology, 2013, 136: 49-57.
- [29] 张修顺. 蔬菜废弃物肥料化处理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2019.  
ZHANG XS. Study on fertilization treatment of vegetable waste[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2019 (in Chinese).
- [30] ZENG Y, de GUARDIA A, ZIEBAL C, de MACEDO FJ, DABERT P. Nitrification and microbiological evolution during aerobic treatment of municipal solid wastes[J]. Bioresource Technology, 2012, 110: 144-152.
- [31] 中华人民共和国农业农村部. 有机肥料标准: NY 525—2021[S]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 1-16.  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Organic fertilizer standard: NY 525—2021[S]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 2021: 1-16 (in Chinese).
- [32] 李少明, 汤利, 范茂攀, 肖靖秀, 王自林, 芮晓林. 不同微生物腐熟剂对烟末高温堆肥腐熟进程的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 783-786.  
LI SM, TANG L, FAN MP, XIAO JX, WANG ZL, RUI XL. Effect of different microbial blends on high temperature composting maturity process of tobacco fine waste[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27(2): 783-786 (in Chinese).
- [33] LIU LY, LIU S, ZHU SR, ZHOU XY, MA YS, PAN NG, LI D, LI Y, LI CT. Effects of different concentrations of biological maturity agents on nitrogen and microbial diversity of *Auricularia heimuer* residue compost[J]. Bioresource Technology, 2023, 388: 129641.
- [34] ALTUNKAYNAK F, ÇAVUŞOĞLU K, YALÇIN E. Detection of heavy metal contamination in Batlama Stream (Turkiye) and the potential toxicity profile[J]. Scientific Reports, 2023, 13: 11727.
- [35] RANTALA MV, MEYER-JACOB C, KIVILÄ EH, LUOTO TP, OJALA AEK, SMOL JP, NEVALAINEN L. Traces of sunlight in the organic matter biogeochemistry of two shallow subarctic lakes[J]. Biogeochemistry, 2021, 155(2): 169-188.
- [36] 黄家庆, 叶菁, 李艳春, 林怡, 刘岑薇, 王义祥. 生物炭对猪粪堆肥过程中细菌群落结构的影响[J]. 微生物学通报, 2020, 47(5): 1477-1491.  
HUANG JQ, YE J, LI YC, LIN Y, LIU CW, WANG YX. Effect of biochar on bacteria community structure of pig manure composting[J]. Microbiology China, 2020, 47(5): 1477-1491 (in Chinese).
- [37] WAN JX, WANG XF, YANG TJ, WEI Z, BANERJEE S, FRIMAN VP, MEI XL, XU YC, SHEN QR. Livestock manure type affects microbial community composition and assembly during composting[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 621126.
- [38] 敖静, 李杨, 刘晓辉, 高晓梅, 孙玉禄. 鸡粪堆肥发酵过程微生物数量与温度及酶变化的相关性研究[J]. 微生物学杂志, 2020, 40(5): 67-72.  
AO J, LI Y, LIU XH, GAO XM, SUN YL. Reciprocity of microbial quantity, temperature and enzyme changes in fermentation process of chicken manure compost[J]. Journal of Microbiology, 2020, 40(5): 67-72 (in Chinese).
- [39] 徐同宝, 李吕木, 甄长丰, 孙林, 付弘赞, 张晓. 不同微生物对猪粪堆肥过程及其养分状况的影响[J]. 农业工程学报, 2008, 24(11): 217-221.  
XU TB, LI L, ZHEN CF, SUN L, FU HY, ZHANG X. Effects of different microorganism consortiums on composting process of pig manures and their nutrient status[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2008, 24(11): 217-221 (in Chinese).
- [40] 王文凡, 刘银秀, 谢晓杰, 杨健, 赵卓群, 王敏, 郑华宝. 牛粪堆肥中纤维素高效降解菌的筛选与产酶



- 条件优化[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4796-4811.
- WANG WF, LIU YX, XIE XJ, YANG J, ZHAO ZQ, WANG M, ZHENG HB. Screening of efficient cellulose degrading bacteria in cow manure compost and optimization of enzyme production conditions[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4796-4811 (in Chinese).
- [41] GUO HH, GU J, WANG XJ, NASIR M, YU J, LEI LS, WANG J, ZHAO WY, DAI XX. Beneficial effects of bacterial agent/bentonite on nitrogen transformation and microbial community dynamics during aerobic composting of pig manure[J]. Bioresource Technology, 2020, 298: 122384.
- [42] HU T, WANG XJ, ZHEN LS, GU J, ZHANG KY, WANG QZ, MA JY, PENG HL, LEI LS, ZHAO WY. Effects of inoculating with lignocellulose-degrading consortium on cellulose-degrading genes and fungal community during co-composting of spent mushroom substrate with swine manure[J]. Bioresource Technology, 2019, 291: 121876.
- [43] 陆晓林, 朱为静, 王经邦, 王卫平, 朱凤香, 洪春来, 洪磊东, 姚燕来, 戚行江, 周文林. 超高温堆肥促进氮素减损的微生物机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(7): 2805-2818.
- LU XL, ZHU WJ, WANG JB, WANG WP, ZHU FX, HONG CL, HONG LD, YAO YL, QI XJ, ZHOU WL. Progress in the microbial mechanism for the promotion of nitrogen loss reduction by hyperthermophilic composting[J]. Microbiology China, 2022, 49(7): 2805-2818 (in Chinese).
- [44] BASOTRA N, KAUR B, Di FALCO M, TSANG A, CHADHA BS. *Mycothermus thermophilus* (Syn. *Scytalidium thermophilum*): repertoire of a diverse array of efficient cellulases and hemicellulases in the secretome revealed[J]. Bioresource Technology, 2016, 222: 413-421.