

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2020.04.011

何宙阳, 徐谡, 刘超, 等. 木质纤维降解复合菌剂促进堆肥腐熟研究. 土壤, 2020, 52(4): 728–735.

木质纤维降解复合菌剂促进堆肥腐熟研究^①

何宙阳, 徐谡, 刘超, 刘红军, 李荣*, 沈标, 沈其荣

(江苏省固体有机废弃物资源化高新技术研究重点实验室/江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心/国家有机肥类肥料工程技术研究中心/南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要: 利用工厂化高温好氧堆肥方式, 探究了具有高效降解木质纤维能力的微生物复合菌剂分别对纯秸秆和秸秆畜禽粪污混合物堆肥效率的影响。以纯秸秆和猪粪秸秆混合物为原料, 设置空白对照、单菌处理和复合菌处理, 评估堆肥过程中不同堆体温度、含水量、pH、有机质含量、发芽指数和养分等理化指标的变化对堆体腐熟效率的影响。结果表明, 无论何种堆肥原料, 相比空白和单菌处理, 复合菌处理堆体均升温速率最快, 高温期温度最高, 后熟期降温最快。堆肥过程中, 各处理 pH 无显著差异, 变化趋势基本一致; 各处理发芽指数(GI)不断提高, 纯秸秆和秸秆粪污混合物为原料的接复合菌处理均在第 25 天高于接单菌处理, 至堆肥结束时, 接复合菌处理的发芽指数分别为 93.45% 和 98.67%; 随堆肥的进行, 各处理有机质含量均处于下降趋势, 至堆肥结束时, 所有处理的有机质含量均高于 450 g/kg; 各处理的全氮、全磷、全钾含量在堆肥结束时比堆肥初始均有所增加, 至堆肥结束时, 以纯秸秆和秸秆粪污混合物为原料的接复合菌处理的总氮和总磷含量均显著高于其他处理。综上, 相比于不添加外源菌和添加单一菌株, 高效木质纤维降解复合菌剂的添加, 能够有效促进堆肥的腐熟, 提高堆肥效率。

关键词: 微生物; 复合菌剂; 秸秆; 猪粪; 堆肥

中图分类号: S141.4 **文献标志码:** A

Using Wood Fiber Degrading Compound Microbial Agents to Promote Maturity of Composting

HE Zhouyang, XU Xu, LIU Chao, LIU Hongjun, LI Rong*, SHEN Biao, SHEN Qirong

(1 Jiangsu Key Laboratory of Solid Organic Waste Utilization, National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: High-temperature aerobic composting method in the factory was used to evaluate the composting efficiency driven by the wood fiber degrading compound microbial agents with pure straws and the mixture of straws and livestock manure as raw materials, and three treatments were designed, which included blank inoculated with none microbe, single strain treatment inoculated with one bacterial strain, and compound microbial agent treatment inoculated with the mixture of three microbes, to investigate the variation of temperature, water content, pH, organic matter content, germination index and nutrients, and so on during composting. Results showed that no matter what kind of composting materials, compared with blank and single strain treatment, the compound microbial agent treatment showed the fastest heating rate, the highest temperature in the high temperature period, and the fastest temperature decrease in the post-ripening period. During the composting, none significant difference of the variation of pH was observed and all the treatments showed similar trends. Germination indexes in all the treatments increased during composting, respectively, and the compound microbial agent treatment revealed higher value than the other two treatments after 25 days fermentation with value of 93.45% and 98.67%, respectively at the end of composting in the piles of pure straws and the mixture of straws and livestock manure. During the composting, the contents of organic matter showed decreasing trends in all the treatments and at the end of composting, higher than 450 g/kg for all treatments. The total

^①基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0500201)、江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(19)2026)、江苏省高校品牌专业建设工程资助项目(PPZY2015A061)和校大学生创新训练项目(1513A09)资助。

* 通讯作者(lirong@njau.edu.cn)

作者简介: 何宙阳(1995—), 男, 浙江台州人, 硕士研究生, 主要研究领域为植物营养学。E-mail: 2961563200@qq.com

nitrogen, phosphorus and potassium contents were higher in all treatments at the end of composting than at beginning, and after composting, regardless of the raw materials, the total nitrogen and phosphorus contents were significantly higher than other treatments. To sum up, compared with none inoculation and adding single strain, amendment of high-efficiency lignocellulosic decomposing compound microbial agents effectively promoted composting efficiency.

Key words: Microorganism; Compound microbial agent; Straw; Pig manure; Composting

我国是农业大国,农作物收获后产生了大量秸秆资源^[1],年均产量约占世界总产量的30%^[2],并且含有大量有机质和丰富的氮、磷、钾等营养元素^[3],是一类重要的能直接利用的可再生生物资源。但秸秆的不科学利用,对环境造成了巨大压力^[4]。当前,秸秆资源的利用方式有用作动物饲料^[5]和食用菌栽培等原料^[6],但利用量有限;直接还田和养畜过腹还田技术在我国北方和降雨量少的区域,限制了下茬作物的高效栽培^[7];秸秆发电和生产工业原料等工序复杂、成本较高,甚至具有形成二次环境污染风险^[8-9]。另外,改革开放40多年来,我国的畜牧业已经完全进入规模化养殖阶段^[10]。据统计,中国高度集约化养殖业每年产生的畜禽粪便(鲜重)类养殖废弃物高达40亿t^[11]。因此,如何高效处理这两类废弃物,成为当前迫切需要解决的重要命题。

好氧发酵是废弃秸秆和畜禽粪便无害化处理和资源化利用的重要方式^[12-13],更为重要的是,畜禽粪污普遍氮含量较高,其和秸秆采用最优配比混合能够有效驱动堆肥进行^[14]。但畜禽粪污和秸秆成分复杂,依靠单一菌种或简单组合的复合菌群,存在降解不充分且效率低等难题。另外,高效复合菌群菌种多样性的特点使其能够适应各种生境^[15],不同的微生物种群在堆肥过程的不同阶段对不同有机物降解起关键驱动作用^[16]。因此,开发木质纤维高效降解微生物复合菌群,并研究其实际驱动堆肥的效果是目前研究的重点。

本研究首先测定复合微生物菌群在降解木质纤维过程中的分泌酶的活性并评估了室内对秸秆粉的降解效果,随后分别以秸秆和猪粪秸秆混合物为原料,研究了接种复合微生物菌群,相比于接种单一菌株和不接种外源菌株的堆肥效率,探究了微生物菌剂的添加对堆肥腐熟效率的影响,以期对秸秆和畜禽粪污的资源化利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与时间地点

高效木质纤维降解菌均由江苏省固体有机废弃物资源化高技术重点实验室提供,复合菌剂由等

浓度的米黑根毛霉菌 NJAU-F4-5、芽孢杆菌 NJAU-N20 和芽孢杆菌 NJAU-N30($V:V:V=1:1:1$)组成。试验用的玉米秸秆由四川乐山玉米种植基地提供,猪粪由当地养猪场提供,其基本理化性质见表1。试验时间为2018年8月25日—2018年10月5日,在四川省乐山市奥甘霖生物科技有限公司某堆肥车间进行。

表1 堆肥原料基本理化性质
Table 1 Basic properties of main composting materials

原料	总碳(g/kg)	总氮(g/kg)	碳氮比	含水量(g/kg)	pH
猪粪	367.22	23.11	15.89	750.2	6.76
玉米秸秆	456.83	6.10	74.89	482.1	6.62

1.2 试验设计

1.2.1 复合菌剂制备 将真菌接种至PDA液体培养基,50℃、170 r/min条件下培养2 d;将细菌接种至LB培养基,50℃、170 r/min下培养2 d。待各菌株长好后,细菌用稀释平板法测菌落数,真菌用血球计数板计孢子数量,并用无菌水调节使各菌液浓度均在 10^9 个/ml(真菌)或 10^9 cfu/ml(细菌)。

1.2.2 单菌和复合菌产木质纤维降解酶能力 单菌和组合菌均用酶活试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司)测定其降解与木质素和纤维素相关的酶活。

1) β -葡萄糖苷酶(β -GC)活力测定。 β -葡萄糖苷酶分解对-硝基苯- β -D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯,后者在400 nm有最大吸收峰,通过测定吸光值升高速率来计算 β -葡萄糖苷酶活力。

$$\beta\text{-GC}(\text{nmol}/(\text{min}\cdot\text{ml}))=(\Delta A+0.0027)\div 0.00543\times V_{\text{总}}\div V_{\text{样}}\div T=61.39\times(\Delta A+0.0027) \quad (1)$$

2) 外切- β -1,4-葡聚糖酶(C1)活力测定。采用3,5-二硝基水杨酸法测定外切- β -1,4-葡聚糖酶催化微晶纤维素降解产生的还原糖的含量。

$$\text{C1}(\mu\text{g}/(\text{min}\cdot\text{ml}))=1000\times(\Delta A+0.0673)\div 6.4078\times V_{\text{总}}\div V_{\text{样}}\div T=14.305\times(\Delta A+0.0673) \quad (2)$$

3) 内切- β -1,4-葡聚糖酶(Cx)活力测定。采用3,5-二硝基水杨酸法测定内切- β -1,4-葡聚糖酶催化羧甲基纤维素钠降解产生的还原糖的含量。

$$\text{Cx}(\mu\text{g}/(\text{min}\cdot\text{ml}))=1000\times(\Delta A+0.0673)\div 6.4078\times V_{\text{总}}\div V_{\text{样}}\div T=14.305\times(\Delta A+0.0673) \quad (3)$$

4) 滤纸酶(FPA)活力测定。滤纸酶水解滤纸产生的还原糖能与 3,5-二硝基水杨酸生成红棕色氨基化合物,在 540 nm 处有最大光吸收,在一定范围内反应液颜色深浅与还原糖的量成正比,可测定计算滤纸酶的活力。

$$\text{FPA(U/ml)} = (\Delta A + 0.0255) \div 0.2805 \times V_{\text{总}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.416 \times (\Delta A + 0.0255) \quad (4)$$

5) 中性木聚糖酶(NEX)活力测定。NEX 在中性环境中催化木聚糖降解成还原性寡糖和单糖,在沸水浴条件下进一步与 3,5-二硝基水杨酸发生显色反应,在 540 nm 处有特征吸收峰,反应液颜色的深浅与酶解产生的还原糖量成正比,通过测定反应液在 540 nm 吸光值增加速率,可计算 NEX 活力。

$$\text{NEX(nmol/(min} \cdot \text{ml))} = (\Delta A - 0.00058) \div 1.6904 \div 150 \div T \times 10^6 = 657 \times (\Delta A - 0.00058) \quad (5)$$

上述公式中, $V_{\text{总}}$: 反应体系总体积(ml); $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积(ml); T : 反应时间(min); ΔA : 测定组与对照组的吸光值差。

1.2.3 秸秆粉降解效果研究 称取一定量的秸秆粉置于 250 ml 三角瓶中,分别吸取等量的单菌和复合菌剂加入三角瓶,混合均匀,放入 50 °C 培养箱中培养,15 d 后,烘干样品称重,以不接菌处理为对照,通过失重法计算秸秆粉降解率。

1.2.4 以纯秸秆为原料工厂化堆肥试验 以纯秸秆为原料进行堆肥腐熟试验,设计 3 个处理: 秸秆, 秸秆+单菌, 秸秆+复合菌, 分别标记为 J1、J2、J3。于室外堆场用铲车将物料分成上述的 3 个处理,将高效单菌及组合菌群分别按照 10 g/kg 比例加入对应物料堆体,调节各处理堆体含水量为 650 ~ 700 g/kg; 用铲车将混合料转运至发酵仓发酵,建成 3 个长×宽×高 = 3 m×2 m×1.8 m 的堆体。用铲车每隔 5 d 翻堆一次,每次翻堆结束后,取样保存并测定堆肥过程中物理化性状的变化。

1.2.5 以猪粪秸秆混合物为原料工厂化堆肥试验 以纯秸秆与猪粪混合物为原料进行堆肥腐熟试验。纯秸秆和猪粪按照碳氮比为 25 进行混合后,设计 3 个处理: 猪粪+秸秆、猪粪+秸秆+单菌、猪粪+秸秆+复合菌,分别标记为 Z1、Z2 和 Z3。其余操作同 1.2.3。

1.3 工厂化堆肥测定项目与方法

1.3.1 堆体温度测定 每天上午 9:00 和下午 15:00 使用水银温度计对堆体中部同一高度(50 cm)随机测量 5 个点,取平均温度作为堆体的实际温度。

1.3.2 堆肥样品采集 在整个堆肥过程中,于第 0、5、10、15、20、25、30、35、45 天进行样品的

采集。采用五点采样法,于堆肥 4 个方向和中间位置采集等量样品混合均匀。样品分成 3 份,其中 2 份分别保存于 4 °C 和 -80 °C 冰箱,另一份自然风干粉碎后待用。

1.3.3 含水量和 pH 的测定 用 105 °C 烘干法测定肥料的含水量,每个样品设置 5 次重复。新鲜样品和去离子水以 1:10(m/V)混合,置于水平摇床振荡 2 h,静置 30 min 后用 pH 计测定,每个样品进行 5 次重复。

1.3.4 有机质、全氮、全磷和全钾含量的测定 经风干、粉碎、细化、均一化的样品过 100 目筛后用锡箔纸包被,使用元素分析仪(Vario EL, Germany),通过干烧法进行全碳和全氮含量的测定,C/N = 总碳含量/总氮含量。每个样品设置 5 次重复。风干样品过 20 目筛参照农业部行业标准 NY525—2012《有机肥料》标准^[17],用钼黄法测定全磷(P₂O₅)含量,用火焰光度法测定全钾(K₂O)含量,每个样品进行 5 次重复。

1.3.5 发芽指数的测定 新鲜样品与去离子水以 1:10 混合(m/V),置于水平摇床振荡 2 h 后过滤。取 5 ml 滤液加入铺有滤纸的培养皿内,每个培养皿内放置 20 颗独行菜(*Lepidium. apetalum*)种子,空白对照为去离子水。培养皿放置于 25 °C 恒温培养箱中暗培养 3 d 后,测定发芽种子数以及根长。每个样品设置 5 次重复。

$$\text{发芽指数(\%)} = (\text{样品发芽率} \times \text{样品根长}) \times 100\% / (\text{对照发芽率} \times \text{对照根长})$$

1.3.6 数据分析 采用 Matlab 2016a、SigmaPlot 12.5、Microsoft Excel 2016 软件进行数据统计分析。使用最小显著差异法 (least significant difference, LSD) 检验进行多重比较($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 单菌和复合菌产木质纤维降解酶能力

单菌和复合菌在 55 °C 下产木质纤维降解相关酶活力如表 2 所示。复合菌(NJAU-N30+NJAU-F4-5+NJAU-N20)产外切-β-1,4-葡聚糖酶活力达到 12.264 μg/(min·ml),内切-β-1,4-葡聚糖酶活力达到 12.630 μg/(min·ml),β-葡萄糖苷酶的酶活力达到 17.501 nmol/(min·ml),中性木聚糖酶活力达到 502.084 nmol/(min·ml),滤纸酶活力达到 0.582 U/ml。在所有的处理中,复合菌处理的各酶活高于所有单菌处理。

表 2 单菌和复合菌在 55℃ 下产木质纤维降解酶能力
Table 2 Abilities of single and mixed bacteria to produce lignocellulosic degrading enzymes at 55 °C

处理	β -GC(nmol/(min·ml))	C1(μ g/(min·ml))	Cx(μ g/(min·ml))	FPA(U/ml)	NEX(nmol/(min·ml))
单菌 1	12.207 ± 1.221 b	11.773 ± 1.221 ab	12.165 ± 1.004 a	0.395 ± 0.035 b	493.541 ± 12.643 a
单菌 2	9.207 ± 1.137 c	6.035 ± 1.018 c	9.341 ± 0.894 b	0.365 ± 0.044 b	427.186 ± 20.621 b
单菌 3	14.145 ± 1.388 b	10.061 ± 1.127 b	12.499 ± 1.106 a	0.429 ± 0.021 b	417.444 ± 21.484 b
复合菌	17.501 ± 1.322 a	12.264 ± 1.046 a	12.630 ± 0.667 a	0.582 ± 0.023 a	502.084 ± 20.281 a

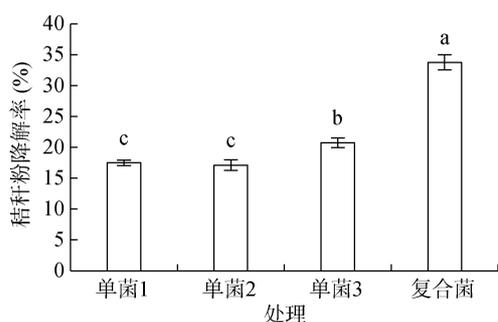
注： β -GC： β -葡萄糖苷酶，C1：外切- β -1,4 葡聚糖酶，Cx：内切- β -1,4 葡聚糖酶，FPA：滤纸酶，NEX：中性木聚糖酶；单菌 1：芽孢杆菌 NJAU-N30；单菌 2：真菌 NJAU-F4-5；单菌 3：芽孢杆菌 NJAU-N20；复合菌：NJAU-N30:NJAU-F4-5:NJAU-N20=1:1:1；下同。同列数据小写字母不同表示处理间差异达到 $P < 0.05$ 显著水平。

2.2 单菌和复合菌对秸秆粉的降解效果及与产木质纤维降解酶能力的相关性

不同菌群组合对秸秆粉降解的影响如图 1 所示。在所有单菌处理中，3 号单菌(菌株 NJAU-N20)处理

降解效率最高,为 20.75%;1 号单菌(菌株 NJAU-N30)处理其次,降解率为 17.49%;2 号单菌(菌株 NJAU-F4-5)的降解率最低。复合菌处理(NJAU-N30+NJAU-F4-5+NJAU-N20)降解率显著高于单菌处理,为 33.76%,表明复合菌处理对秸秆粉的降解率明显大于单菌处理。

从图 2 可以看出,所有产木质纤维降解酶与秸秆粉降解都有相关性,其中 FPA(滤纸酶)与秸秆粉降解的相关性最为密切,其次是 β -GC (β -葡萄糖苷酶),并且 FPA 和 β -GC 的值越大,秸秆粉降解率就越高。结合表 2 可知,在所有单菌处理中,菌株 NJAU-N20 处理产 FPA 和 β -GC 的能力最高,复合菌剂产 FPA 和 β -GC 的能力显著大于所有单菌,这与图 1 秸秆粉的降解规律一致,表明单菌和复合菌对秸秆的降解是由 FPA 和 β -GC 的活性起主导作用。



(图中小写字母不同表示处理间差异达 $P < 0.05$ 显著水平)

图 1 不同处理对秸秆粉的降解效果

Fig. 1 Effects of different treatments on degradation of straw powders

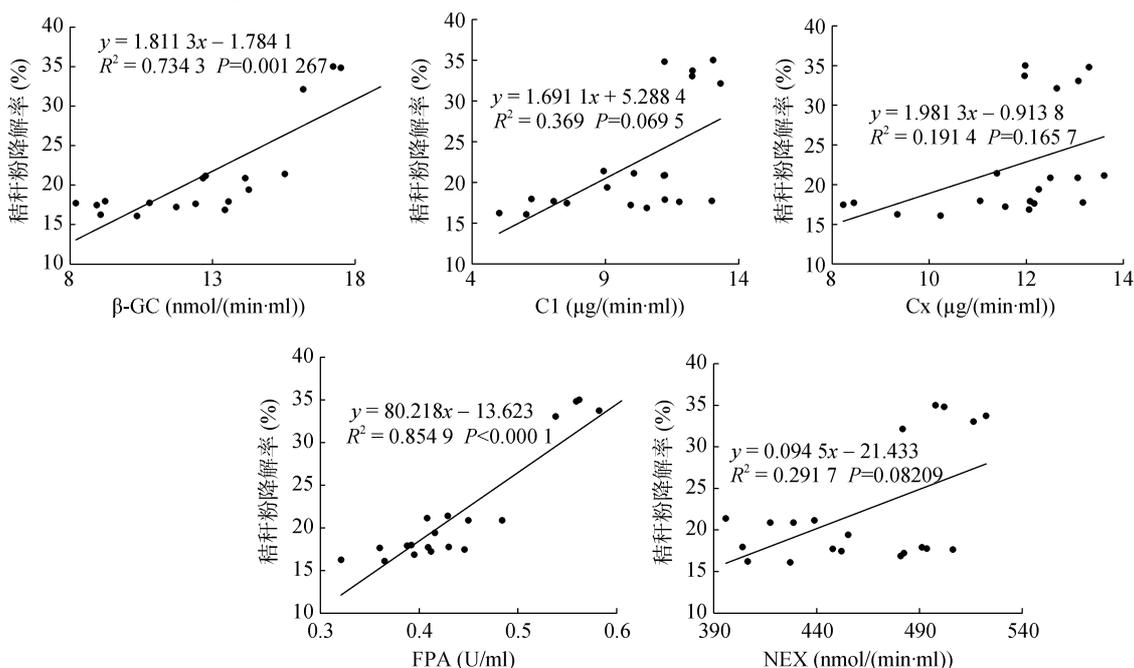


图 2 不同菌群组合产木质纤维降解酶能力与秸秆粉降解的相关性

Fig. 2 Correlation between abilities of different bacterial groups to produce lignocellulosic degrading enzymes and straw powders degradation

综上所述，选择最优单菌(NJAU-N20)及复合菌剂(NJAU-N30+NJAU-F4-5+NJAU-N20)应用到随后的工厂化原位堆肥研究。

2.3 秸秆堆肥过程中理化性质的变化

2.3.1 秸秆堆肥过程中温度的变化 从图 3 可以看出，各个处理堆肥温度均经历了 3 个阶段(升温、高温和降温)，50 °C 以上持续的时间均超过 20 d。添加复合菌剂的处理起堆后升温最快，其次是添加单菌处理的堆体。添加复合菌剂的 J3 处理第 10 天温度即达到最高点 74.5 °C，直到第 40 天温度开始下降，进入降温期。

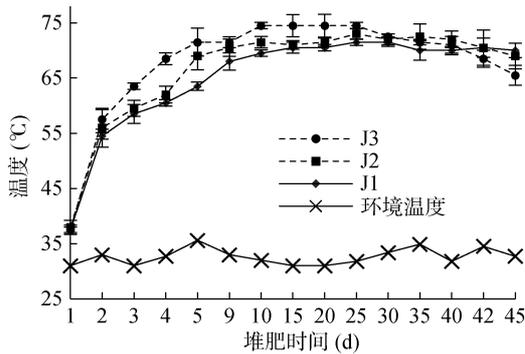


图 3 秸秆堆肥过程中不同处理的温度变化
Fig. 3 Variations of temperature in different treatments during composting process of pure straws

2.3.2 秸秆堆肥过程中含水量和 pH 的变化 由图

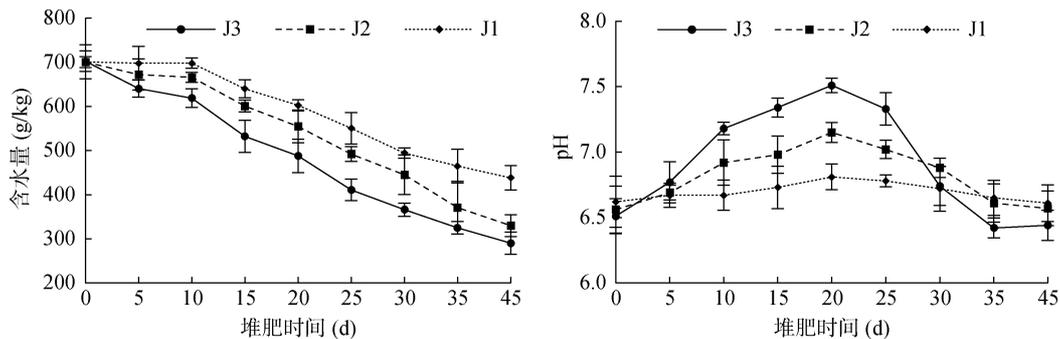


图 4 秸秆堆肥过程中含水量和 pH 的变化
Fig. 4 Variations of water content and pH during composting of pure straws

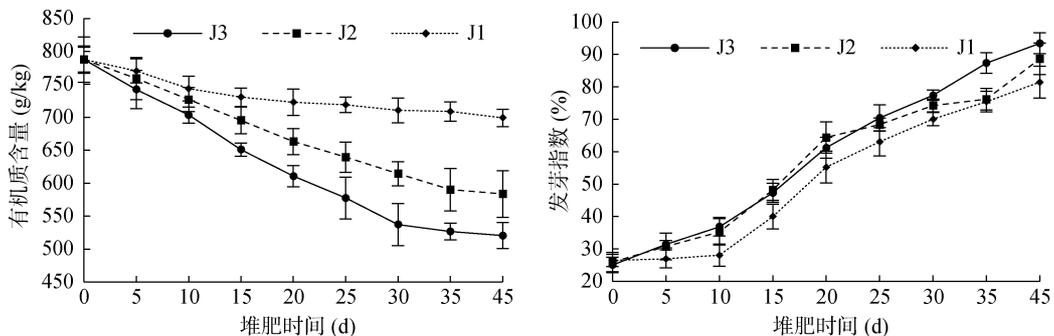


图 5 秸秆堆肥过程中有机质含量和发芽指数的变化
Fig. 5 Variations of organic matter and germination index during composting of pure straws

4 可知，随着秸秆堆肥的进行，3 个处理的含水量均在下降，添加外源菌剂的 J3 和 J2 处理下降速度均高于 J1，其中 J3 效率更高，含水量从 702.4 g/kg 下降到 290.2 g/kg，符合农业部行业标准 NY525—2012《有机肥料》标准^[17]。3 个堆体 pH 变化趋势一致，在堆肥初期均大幅升高，在第 20 天左右达到最大值，随后下降，后期趋于稳定。其中，堆体 J3 的 pH 变化幅度最大，至堆肥结束，堆体稳定在 6.44 左右。

2.3.3 秸秆堆肥过程中有机质含量和发芽率的变化 从图 5 可以看出，在堆肥过程中，3 个堆体有机质含量均呈下降趋势，J3 处理的有机质下降最多，其次为 J2 处理，至堆肥结束，J1、J2 和 J3 的有机质含量分别为 699.1、583.6、520.3 g/kg。在堆肥过程中，3 个堆体的发芽指数呈明显上升趋势，J3 和 J2 的发芽指数始终高于 J1。堆肥前期，J3 和 J2 处理的发芽指数相差不多，呈交替上升趋势；至 25 d，J3 处理的发芽指数高于 J2；在第 35 天时，J3 处理的发芽指数最高，达到 87.36%，而 J2 处理为 76.22%；至堆肥结束，J3 发芽指数达到 93.45%。

2.3.4 秸秆堆肥过程中总氮、总磷和总钾含量的变化 从表 3 可以看出，3 个处理的养分含量均高于初始样品养分含量。至堆肥结束时 3 个处理的养分含量具有差异，J3 堆体的全氮含量最高，与 J2 和 J1 均

表 3 秸秆堆肥过程中养分含量的变化(g/kg)
Table 3 Variations of nutrient contents during composting of pure straws

养分	J1		J2		J3	
	初始	结束	初始	结束	初始	结束
全氮	6.2 ± 0.2 a	10.1 ± 1.1 b	6.1 ± 0.7 a	11.4 ± 0.1 b	6.3 ± 0.7 a	12.6 ± 0.3 a
全磷	3.9 ± 0.8 a	4.9 ± 0.3 c	4.1 ± 0.1 a	5.2 ± 0.2 b	3.9 ± 1.4 a	6.1 ± 0.4 a
全钾	16.7 ± 0.1 a	17.4 ± 1.7 a	16.5 ± 0.9 a	17.6 ± 0.3 a	16.5 ± 0.5 a	18.6 ± 1.2 a

注：所有结果以干重计；表中小写字母不同表示初始或者堆肥结束后处理间养分含量差异达 $P < 0.05$ 显著水平，下表同。

有显著性差异；J3 处理的全磷含量显著高于 J2 和 J1，J2 处理的全磷显著含量高于 J1；3 个处理的全钾含量差异性不大，其中 J3 处理略高。堆肥结束时 J3 处理的总养分含量(N+P₂O₅+K₂O)最高。

2.4 秸秆猪粪混合物堆肥过程中理化性质的变化

2.4.1 秸秆猪粪混合物堆肥过程中温度的变化 从图 6 可知，各处理堆肥温度均经历了升温、高温和降温期 3 个阶段，50 °C 以上持续时间均超过 20 d，添加复合菌剂的处理起堆后升温最快，其次是添加单菌处理堆体，高温期 Z3 处理温度高于 Z1 和 Z2 处理，Z3 处理先于 Z1 和 Z2 处理进入降温期。

2.4.2 秸秆猪粪混合物堆肥过程中含水量和 pH 的变化 如图 7 所示，随着堆肥的进行，3 个处理的含水量均在下降，其中添加复合菌堆体 Z3 含水量下降最快，其次为添加单菌的处理 Z2；在堆肥结束时 3 个堆体的含水量均小于 300 g/kg，符合国家标准 NY525—2012^[17]。3 个堆体的 pH 变化趋势大致相同，在堆肥初期均大幅升高，在第 20 天左右达到最大值，随后下降，后期趋于稳定。在堆肥结束时，Z3 处理的 pH 为 7.24。

2.4.3 秸秆猪粪混合物堆肥过程中有机质含量和发芽率的变化 由图 8 可知，堆肥过程中 3 个堆体的有机质含量均呈下降趋势，Z3 处理的有机质含量下降最快，至堆肥结束，Z1、Z2 和 Z3 的有机质含量

分别为 475.7、477.7、487.6 g/kg。随着堆肥的进行，3 个堆体的发芽指数呈明显上升趋势，Z3 处理的发芽指数始终高于 Z2 和 Z1，至堆肥结束时，Z3 堆体发芽指数为 96.22%。

2.4.4 秸秆猪粪混合物堆肥过程中总氮、总磷和总钾含量的变化 如表 4 所示，3 个处理的养分含量均高于初始样品养分含量。在堆肥结束时，3 个处理的养分含量具有差异，Z3 处理的全氮含量最高，且显著高于 Z1 和 Z2 处理；Z3 和 Z2 处理的全磷含量与 Z1 处理有显著性差异，Z3 处理的全氮含量最高；3 个处理间的全钾含量无显著性差异，但 Z3 处理的全钾含量更高。在堆肥结束时 Z3 处理的总养分含量(N+P₂O₅+K₂O)最高，达到了 50 g/kg。

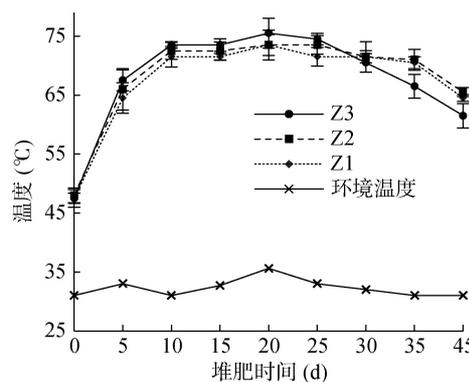


图 6 秸秆猪粪混合物堆肥过程中不同处理的温度变化
Fig. 6 Variations of temperature in different treatments during composting process of mixture of straws and pig manure

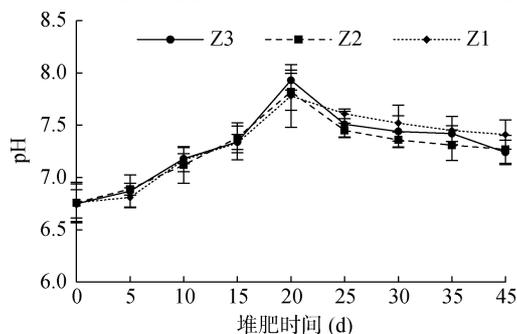
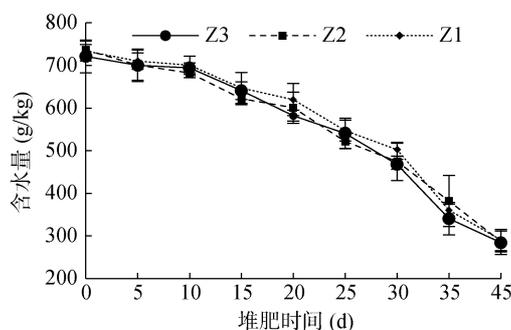


图 7 秸秆猪粪混合物堆肥过程中含水量和 pH 的变化

Fig. 7 Variations of water content and pH during composting of mixture of straws and pig manure

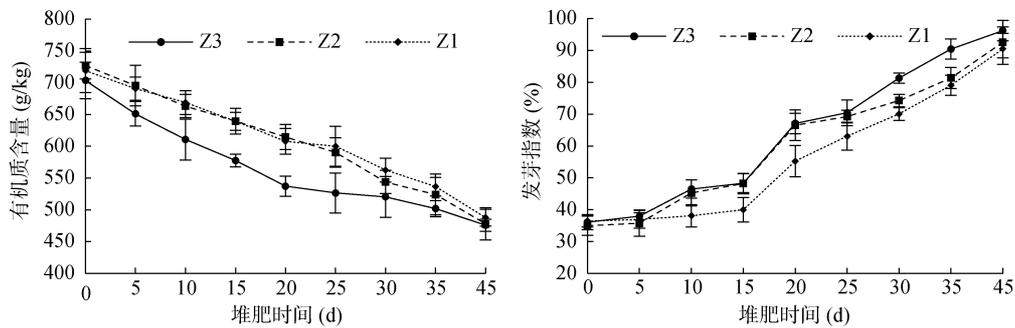


图 8 猪粪秸秆混合物堆肥过程中有机质和发芽指数的变化

Fig. 8 Variations of organic matter and germination index during composting of mixture of straws and pig manure

表 4 猪粪秸秆混合物堆肥过程中养分含量的变化(g/kg)

Table 4 Variations of nutrient contents during composting of mixture of straws and pig manure

养分	Z1		Z2		Z3	
	初始	结束	初始	结束	初始	结束
全氮	17.4 ± 0.7 a	18.5 ± 0.2 b	17.7 ± 0.3 a	18.7 ± 0.1 b	17.3 ± 0.7 a	19.6 ± 0.3 a
全磷	9.8 ± 0.6 a	15.6 ± 0.1 b	10.1 ± 0.3 a	16.5 ± 1.3 a	9.8 ± 1.4 a	17.8 ± 0.4 a
全钾	10.6 ± 0.7 a	11.4 ± 0.09 a	10.0 ± 1.1 a	12.2 ± 0.6 a	10.5 ± 0.5 a	12.8 ± 1.2 a

3 讨论

为针对秸秆资源化利用,开发纯秸秆和秸秆配伍畜禽粪便高效堆肥工艺,本研究首先测定单菌和复合菌在降解木质纤维过程中的分泌酶的活性并通过室内对秸秆粉的降解试验,筛选得到了最优单菌及复合菌剂,其中复合菌处理的各酶活高于所有其组成单菌的酶活并且复合菌对秸秆粉的降解效果显著优于单菌效果,这与前人的研究结果一致^[18],由真菌、细菌组成的混合菌分解纤维素的能力明显强于其中任何一个单一菌株。对单菌和复合菌的秸秆降解效果与分泌酶的活性进行相关性分析,发现所有产木质纤维降解酶与秸秆降解有相关性,其中FPA(滤纸酶)与秸秆降解的相关性最为密切,其次是 β -GC(β -葡萄糖苷酶),并且FPA和 β -GC的值越大,秸秆降解率就越高,表明单菌和复合菌对秸秆的降解是由FPA和 β -GC的活性起主导作用。周月明等^[19]的研究发现以固态纤维素类为降解底物的酶,其活性可以反映总纤维素类物质的降解效果,其中滤纸酶可以降解不溶性纤维素及半纤维素, β -葡萄糖苷酶可以降解可溶性纤维素及半纤维素。秸秆是由大量的有机物和少量的无机物及水所组成的,其有机物的主要成分为木质纤维类的碳水化合物^[20],因此,复合菌产生的更为复杂和多样性的木质纤维降解酶通过协同作用产生更加优异的降解效果^[21]。

在工厂化原位堆肥试验中,无论是纯秸秆还是秸秆畜禽粪污混合物堆肥的温度在60℃以上均维持了超过40d,对堆肥而言,温度是影响微生物活动和

堆肥腐熟的重要因素。本试验中各处理温度均能达到60℃以上,且堆肥过程中60℃以上持续的时间均超过20d,满足堆肥无害化要求^[22]。另外,无论哪种原料,接种微生物菌剂的堆体温度变化更快,更早地进入高温期和降温期,尤其以复合菌剂处理效果更优,这与李天枢^[23]的研究结果一致,堆肥微生物菌剂的添加,提高了最高堆温和堆体的腐熟效率,因此,无论是纯秸秆还是秸秆与畜禽粪污的混合物,复合菌剂的添加,均能够稳定得发挥作用。

所有堆体pH均在堆肥初期大幅升高,随后开始出现下降,至后期趋于稳定。这是由于随着堆肥进行,蛋白质水解氨化,挥发的部分氨造成碱性环境。堆肥后期,随着氨的挥发、蛋白质有机物的彻底降解以及硝化作用的进行,pH逐渐降低,这一结论与姜继韶和黄懿梅^[24]堆肥研究结论一致。过高或过低的pH均会抑制微生物活性^[25],本研究中,无论是纯秸秆还是秸秆与畜禽粪污的混合物堆肥均具备合适的堆肥pH范围。所有堆体含水量均呈下降趋势,这是由于堆肥过程中的高温和通气作用伴随着热量和气体挥发以及微生物的分解作用造成水分损失^[26]。堆肥微生物菌剂的添加,加快了堆体的升温速度,促进了水分的蒸发,降低了堆体的含水量,这同样证实,无论是纯秸秆还是秸秆与畜禽粪污的混合物,堆肥菌剂的添加均驱动了堆肥的进行,复合菌效果更优。

在两种原料的堆肥试验中,加了复合微生物菌剂处理的发芽指数的升高速率显著高于添加单菌和空白处理。Raj和Antil^[27]指出许多植物种子在堆肥原料和未腐熟堆肥萃取液中生长受到抑制,而在腐熟的堆肥

中生长得到促进,一般发芽指数大于80%即可认为有机肥基本腐熟。虽然,本试验中,所有堆肥处理结束时,发芽指数均符合此标准,但接种复合菌剂的处理升高速率更快,体现出明显的促进堆肥无害化效果。

堆肥过程是一个复杂的生物化学过程,伴随堆肥化进程,有机物质在微生物作用下发生矿化和腐殖化^[28],所有堆体的有机质含量不断减少,被微生物代谢活动所利用,J3和Z3复合菌处理微生物活动剧烈,下降最多。全氮、全磷和全钾含量比堆肥初始时均有所增加,这是由于微生物的活动导致堆肥的总干物质量下降和部分养分的释放^[29]。至堆肥结束时,秸秆和秸秆猪粪各处理间的总养分具有微弱差异,氮磷钾含量均为复合菌处理>单菌处理>不加菌处理。

4 结论

1)通过测定单菌和复合菌在降解木质纤维过程中分泌酶的活性和室内秸秆粉的降解试验,筛选得到高效降解木质纤维的最优单菌及复合菌剂,复合菌处理的各酶活高于所有其组成单菌的酶活并且对秸秆粉的降解效果显著优于复合菌剂中任一单菌及不添加外源菌的对照,并且所有产木质纤维降解酶与秸秆降解有相关性,其中滤纸酶和 β -葡萄糖苷酶的活性起主导作用。

2)无论是纯秸秆还是秸秆猪粪混合物为原料堆肥,添加复合菌剂堆体均升温速率最快,高温期温度最高,后熟期降温最快;接复合菌处理的发芽率均在第25天高于接单菌处理和对照,表明接种复合菌剂能够有效驱动堆肥的进行。

3)至堆肥结束时,添加复合菌剂处理的堆体氮磷钾养分含量高于接单菌处理和不接菌对照,且所有堆体的养分含量均高于堆肥初始养分含量。

参考文献:

[1] 高文. 全球化和市场化背景下影响我国粮食价格的因素分析[J]. 价格月刊, 2015(1): 21-24.

[2] 王亚静, 毕于运, 高春雨. 中国秸秆资源可收集利用量及其适宜性评价[J]. 中国农业科学, 2010, 43(9): 1852-1859.

[3] 成臣, 汪建军, 程慧煌, 等. 秸秆还田与耕作方式对双季稻产量及土壤肥力质量的影响[J]. 土壤学报, 2018, 55(1): 247-257.

[4] 李培培, 仝昊天, 韩燕来, 等. 秸秆直接还田与炭化还田对潮土硝化微生物的影响[J]. 土壤学报, 2019, 56(6): 1471-1481.

[5] 郭照宙, 许灵敏, 武洪志, 等. 玉米秸秆在畜禽生产中的利用[J]. 畜牧与兽医, 2017, 49(7): 133-136.

[6] 刘建凤, 吉春明, 吕敏. 扬州市稻麦秸秆基质化生产食用菌现状及发展前景[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(11): 2042-2045.

[7] 樊利. 常州市农作物秸秆资源化利用调查与评价研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.

[8] 李必琼. 作物秸秆与城市污泥高温好氧堆肥过程中碳氮磷及重金属转化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.

[9] 张婷, 张一新, 向洪勇. 农作物秸秆综合利用措施研究进展[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(2): 80-85, 124.

[10] 王明利. 改革开放四十年我国畜牧业发展:成就、经验及未来趋势[J]. 农业经济问题, 2018, 39(8): 60-70.

[11] 刘超, 徐谓, 顾文文, 等. 典型畜禽粪便配伍食用菌渣堆肥研究[J]. 中国农学通报, 2018, 34(21): 84-90.

[12] 张雪辰, 邓双, 王旭东. 快腐剂对畜禽粪便堆肥过程中腐熟度的影响[J]. 环境工程学报, 2015, 9(2): 888-894.

[13] 于子旋, 杨静静, 王语嫣, 等. 畜禽粪便堆肥的理化腐熟指标及其红外光谱[J]. 应用生态学报, 2016, 27(6): 2015-2023.

[14] 罗娟, 孟海波, 张玉华, 等. 玉米秸秆添加对果蔬废弃物沼渣堆肥效果的影响[J]. 中国沼气, 2019, 37(4): 92-97.

[15] 李静, 操一凡, 丁佳兴, 等. 含复合菌群生物育苗基质的研制及其育苗效果[J]. 南京农业大学学报, 2018, 41(4): 676-684.

[16] Qiao C C, Ryan Penton C, Liu C, et al. Key extracellular enzymes triggered high-efficiency composting associated with bacterial community succession[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 288:121576.

[17] 中华人民共和国农业部. 有机肥料(NY 525-2012) [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[18] 史玉英, 沈其荣, 娄无忌, 等. 纤维素分解菌群的分离和筛选[J]. 南京农业大学学报, 1996, 19(3): 59-62.

[19] 周月明, 雷阳明, 夏家帅, 等. 农业废弃物堆肥化进程与纤维素类物质降解研究[J]. 三峡生态环境监测, 2018, 3(1): 32-40.

[20] 牛文娟. 主要农作物秸秆组成成分和能源利用潜力[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.

[21] Evans R, Alessi A M, Bird S, et al. Defining the functional traits that drive bacterial decomposer community productivity[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(7): 1680.

[22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 粪便无害化卫生要求: GB 7959—2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.

[23] 李天枢. 畜粪堆肥高效复合微生物菌剂的研制与应用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.

[24] 姜继韶, 黄懿梅, 黄华, 等. 猪粪秸秆高温堆肥过程中碳氮转化特征与堆肥周期探讨[J]. 环境科学学报, 2011, 31(11): 2511-2517.

[25] 姜新有, 王晓东, 周江明, 等. 初始 pH 值对畜禽粪便和菌渣混合高温堆肥的影响[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(9): 1595-1602.

[26] Li R, Li L Z, Huang R, et al. Variations of culturable thermophilic microbe numbers and bacterial communities during the thermophilic phase of composting[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 30(6): 1737-1746.

[27] Raj D, Antil R S. Phytotoxicity evaluation and response of wheat to agro-industrial waste composts [J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2012, 58(1): 73-84.

[28] Zhang L, Sun X Y. Changes in physical, chemical, and microbiological properties during the two-stage co-composting of green waste with spent mushroom compost and biochar[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 171:274-284.

[29] 匡石滋, 李春雨, 田世尧, 等. 复合菌剂对香蕉茎秆堆肥中微生物和养分含量的影响[J]. 中国农学通报, 2011, 27(6): 182-187.