

低温下冷适应性菌剂与超高温菌剂联用的堆肥效果评价

王家寅, 鲁金凤, 王聆卉, 李欣玥, 王玉军, 王晓东

引用本文:

王家寅, 鲁金凤, 王聆卉, 李欣玥, 王玉军, 王晓东. 低温下冷适应性菌剂与超高温菌剂联用的堆肥效果评价[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(9): 2117-2125.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-1017>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

畜禽粪便超高温好氧堆肥工程案例

邢睿智, 艾超凡, 王梦怡, 唐荣, 杨祖沐, 秦树平, 陈志, 周顺桂

农业环境科学学报. 2021, 40(11): 2405-2411 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1108>

水稻秸秆预处理对猪粪高温堆肥过程的影响

王砚, 李念念, 朱端卫, 周文兵, 陈焰鑫, 伍玉鹏

农业环境科学学报. 2018, 37(9): 2021-2028 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1719>

木薯渣堆肥的生物酶活性与有机组分降解的关系

许黎明, 成春燕, 卢汉浪, 莫祺晖, 韦星明

农业环境科学学报. 2017, 36(1): 198-204 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-0908>

极端嗜热功能菌筛选及其促进堆肥腐熟效果研究

王玉, 张晶, 曹云, 吴华山, 黄红英, 刘爱民

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1633-1642 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0007>

添加生物炭对猪粪好氧堆肥的影响

谢胜禹, 余广炜, 潘兰佳, 李杰, 汪刚, 尤甫天, 李春星, 汪印, 王其传

农业环境科学学报. 2019, 38(6): 1365-1372 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1320>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王家寅, 鲁金凤, 王聆卉, 等. 低温下冷适应性菌剂与超高温菌剂联用的堆肥效果评价[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(9): 2117-2125.

WANG J Y, LU J F, WANG L H, et al. Evaluation of composting effect of cold-adapted bacterial agent combined with ultra-high temperature bacterial agent at low temperature[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(9): 2117-2125.



开放科学 OSID

低温下冷适应性菌剂与超高温菌剂联用的堆肥效果评价

王家寅¹, 鲁金凤², 王聆卉¹, 李欣玥¹, 王玉军^{1*}, 王晓东^{3*}

(1. 吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118; 2. 吉林市食品药品检验所, 吉林 吉林 132001; 3. 长春市环境工程评估中心, 长春 130012)

摘要:为了破解低温条件下玉米秸秆堆肥处理时升温难及堆肥成品腐熟度低的难题,本试验在10℃条件下从常年堆积玉米秸秆场所下的土壤与玉米秸秆混合样品中,筛选出3株菌株制成冷适应性菌剂,与已有的超高温菌剂(≥ 50 ℃)联合用于低温条件下玉米秸秆的堆肥,探究两类菌剂在堆肥过程中的作用,最终确立一种低温条件下冷适应性菌剂与超高温菌剂联合应用进行堆肥的方法。结果表明:未添加菌剂(CK)、单接种冷适应性菌剂(T1)、单接种超高温菌剂(T2)3组堆肥升温效果不佳,最高仅能达到50℃左右;而在第0天加入冷适应性菌剂,分别在堆肥开始第0天(T3)、第2天(T4)、第4天(T5)加入超高温菌剂的3组,不仅在堆肥初期升温迅速,且能使堆体温度在第5、6、7天时分别达到79.0、80.3、78.6℃,此外T3、T4、T5组的总有机碳降解率、种子发芽率也均高于CK、T1、T2组;与T5组相比,T3组升温更顺利,这与超高温微生物在堆体中的适应过程有关。研究表明,在低温条件下,冷适应性菌剂和超高温菌剂联合应用使堆肥效果提升显著,25 d即可完成堆肥,且在堆肥开始时加入冷适应性菌剂的前提下,超高温菌剂加入时间越早,其在堆体中发挥作用越顺利,堆肥效果越好。

关键词:低温;冷适应性菌剂;超高温菌剂;玉米秸秆;好氧堆肥

中图分类号:S141.4 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2024)09-2117-09 doi:10.11654/jaes.2023-1017

Evaluation of composting effect of cold-adapted bacterial agent combined with ultra-high temperature bacterial agent at low temperature

WANG Jiayin¹, LU Jinfeng², WANG Linghui¹, LI Xinyue¹, WANG Yujun^{1*}, WANG Xiaodong^{3*}

(1. School of Resources and Environment, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Jilin City Food and Drug Control Institute, Jilin 132001, China; 3. Changchun Environmental Engineering Assessment Center, Changchun 130012, China)

Abstract: To solve the problems of difficult temperature rise and low degree of rotting in compost products during maize straw composting under low-temperature conditions, this experiment screened 3 strains from mixed samples of soil and maize straw under the perennial accumulation of maize stalks at 10℃ to establish a cold-adapted bacterial agent, which was combined with an existing ultra-high temperature (≥ 50 ℃) bacterial agent for composting maize stalks under low-temperature conditions. The functions of two kinds of bacterial agents in the composting process were explore and a composting method was finally established for the combined application of a cold-adapted bacterial agent and an ultra-high temperature bacterial agent at low temperature. The results showed that the temperature rise effects of the 3 groups without adding bacterial agent (CK), a single inoculation of the cold-adapted bacterial agent (T1) and a single inoculation of the ultra-high temperature bacterial agent (T2) were unfavorable, and the maximum temperature could only reach

收稿日期:2023-11-30 录用日期:2024-02-04

作者简介:王家寅(1998—),男,硕士研究生,从事废弃物资源化利用研究。E-mail:20210526@mails.jlau.edu.cn

*通信作者:王玉军 E-mail:yujunw@jlau.edu.cn; 王晓东 E-mail:597678498@qq.com

基金项目:国家重点研发计划项目(2021YFD1500805);吉林省自然科学基金项目(20220101175JC)

Project supported: National Key Research and Development Program of China (2021YFD1500805); Natural Science Foundation of Jilin Province, China (20220101175JC)

approximately 50 °C. The 3 groups had the cold-adapted bacterial agent added on day 0, and the ultra-high temperature bacterial agent was added on days 0(T3), 2(T4), and 4(T5), respectively. This not only increased the temperature rapidly in the early stage of composting, but also made the pile temperature reach 79.0, 80.3 °C and 78.6 °C on days 5, 6, and 7, respectively. In addition, the total organic carbon degradation rate and seed germination rate of T3, T4, and T5 groups were higher than those of the CK, T1, and T2 groups. Compared with the T5 group, the temperature rise of the T3 group was smoother, which is related to the adaptation process of ultra-high temperature bacterial agent in the pile. Our results indicated that the composting effect of the combined application of a cold-adapted bacterial agent and an ultra-high temperature bacterial agent was significantly improved under low-temperature conditions and that the composting could be completed in 25 days. Under the premise of adding a cold-adapted bacterial agent at the beginning of composting, the earlier the addition time of the ultra-high temperature bacterial agent, the smoother its function in the pile with a superior composting effect.

Keywords: low temperature; cold-adapted bacterial agent; ultra-high temperature bacterial agent; maize straw; aerobic composting

东北地区是我国玉米主要产地之一,玉米种植面积大,玉米秸秆是当前该地区最主要的农业废弃物之一^[1-2]。好氧堆肥处理后进行肥料化利用是秸秆最为安全的利用途径之一^[3-6],好氧堆肥对温度和菌种有较高的要求^[7]。我国东北地区秋季时间较短,而进入冬季后,气温下降使得自然微生物的活性显著减弱^[8-9],导致发酵周期延长,甚至无法完成堆肥^[10-13]。

在堆肥中添加低温菌剂是应对低温条件下堆肥初期升温难的常用方法之一^[14]。张书敏等^[15]将筛选出来的低温复合菌剂在8 °C环境下用于玉米秸秆和牛粪堆肥,研究发现添加菌剂可使堆体快速升温到50 °C左右。虽然低温菌剂可在低温条件下帮助堆肥成功启动,使在寒冷地区对玉米秸秆进行大规模好氧堆肥处理成为可能,但绝大部分低温微生物在中高温环境中,生存会受到威胁^[8],使得低温菌剂促进堆体继续升温的效果有限,甚至无法达到无害化处理要求。

添加超高温菌剂能进一步提高堆肥效果,超高温堆肥技术最显著的特点是发酵温度高(≥ 80 °C),最高温度可达93.4 °C^[16],其中的高温微生物在高于50 °C的环境可迅速增殖,同时大量产热有效杀灭病原菌及杂草种子^[17],促进堆肥清洁生产^[18]。崔鹏等^[19]研究发现超高温微生物群落可使堆体中微生物群落更迅速地代谢有机物,产生更多热量。这充分说明了超高温菌剂在中高温环境中可促进堆体大幅升温,并能提高

秸秆中有机物质降解率,同时可有效缩短堆肥周期^[20],但其在低温条件下无法发挥作用。

由于在低温条件下单独使用低温菌剂或超高温菌剂应用效果都不甚理想,本研究利用筛选出的冷适应性菌株制成的菌剂与已有的超高温菌剂联合,对玉米秸秆进行堆肥处理,以期解决东北地区秋收后玉米秸秆需要快速堆腐的问题,为大批量玉米秸秆的肥料化利用提供有效可行的方法。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 培养基

细菌培养采用LB培养基^[21],真菌培养采用PDA培养基^[22],复筛的鉴别培养基采用纤维素刚果红培养基^[23]。

1.1.2 超高温菌剂

供试超高温菌剂是由河南省沃宝生物科技有限公司提供的商品菌剂,主要菌种为芽孢杆菌、放线菌、嗜热菌等,有效活菌数 $\geq 1 \times 10^{10}$ 个 $\cdot g^{-1}$ 。

1.1.3 堆肥物料来源及基本性质

供试玉米秸秆取自吉林农业大学试验田,经自然风干处理后通过机械粉碎为长3~5 cm的堆肥物料;供试鸡粪取自长春某养殖场。各堆肥物料基本性质见表1。

表1 堆肥物料基本性质

Table 1 Basic properties of compost materials

堆肥原料 Composting material	pH	含水率 Moisture content/%	总有机碳 Total carbon/(g \cdot kg $^{-1}$)	总氮 Total nitrogen/(g \cdot kg $^{-1}$)	碳氮比 C/N
玉米秸秆 Maize straw	7.30 \pm 0.08a	11.52 \pm 0.11c	396.50 \pm 9.56a	5.41 \pm 0.23c	73.50 \pm 4.89a
鸡粪 Chicken manure	6.32 \pm 0.04b	50.55 \pm 1.53b	171.32 \pm 5.17b	14.35 \pm 0.55a	11.97 \pm 0.82c
混合物料 Mixed material	7.12 \pm 0.15a	60.29 \pm 3.45a	388.83 \pm 6.69a	11.90 \pm 0.30b	31.18 \pm 2.31b

注:表中数值为平均数 \pm 标准误差($n=3$);同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Values are represented with mean \pm standard error of mean ($n=3$); different lowercase letters in a column indicate significant differences among treatments at $P<0.05$ level.

1.2 冷适应性菌剂的制备方法

1.2.1 冷适应性菌株的初筛

筛选冷适应性菌株的样品为常年堆积玉米秸秆场所下的土壤与玉米秸秆混合样品,取自吉林农业大学试验田,取样后立即运回实验室进行微生物筛选及培养。

在无菌环境下,取上述 10 g 样品至灭菌后的 150 mL 三角瓶内,加入 90 mL 无菌水,将三角瓶振荡 30 min 使其充分分散,静置,吸取 1 mL 上清液至装有 9 mL 无菌水的 10 mL 比色管内,充分摇匀后获得 10^{-1} 浓度稀释液,根据以上步骤反复稀释制得 10^{-2} ~ 10^{-4} 浓度稀释液,分别吸取 0.1 mL 各稀释液涂布至 LB 培养基和 PDA 培养基上,分别在 10 °C 条件下倒置培养细菌和真菌^[21],每个梯度做 3 个平行,每天检查 1 次。当培养基上长出清晰的菌落后,分别挑取形态不同的菌落至对应的新培养基进行分离纯化,成功后进行复筛。

1.2.2 冷适应性菌株的复筛

将纯化成功后的各菌株用接种环点接在纤维素刚果红培养基中心,在 10 °C 条件下倒置培养,培养基上透明圈直径(D)与菌落直径(d)比值较大者即为具有较强纤维素分解能力的菌株。

1.2.3 菌株鉴定

对复筛出的菌株进行分子生物学鉴定,采用 16S rDNA 序列分析(菌株总 DNA 的提取、PCR 扩增、PCR 扩增的纯化及测序)。

在无菌条件下,将 3 株菌株分别接种在 LB 固体培养基试管的斜面上,用甘油密封放置于 4 °C 冰箱保存,用于后续试验。

1.2.4 冷适应性菌剂的制备

将上一步筛选、鉴定后的 3 株功能菌株分别接种到液体培养基中培养至浑浊,在超净工作台中与灭菌后冷却的载体(玉米秸秆粉:高岭土=1:1)^[24-26]按 1:10 的比例混合,在超净工作台中风干后充分研磨至颗粒状,过 2 mm 筛后收集备用。

1.3 堆肥试验

1.3.1 堆肥试验设计

堆肥试验在吉林农业大学试验田中进行,将地面轻微压实并使场地平整无坡度,铺设塑料布防止渗滤液渗入土壤,在场地四周及上方用塑料布搭建简易大棚遮挡风雨。堆肥原料为玉米秸秆,辅料为鸡粪,质量比为秸秆:鸡粪=3:7(干质量),每个堆体质量为 100 kg,原料混匀后在堆肥场地中自然堆积成圆锥

形,混料后堆体 C/N 为 31.18,含水率为 60.29%。根据预实验将堆肥周期设为 30 d,采用人工翻堆的方式控制通气状况,在堆肥开始后第 1、2、3、4、5、7、9、12、15、18、22、26 天进行翻堆及取样。冷适应性菌剂与超高温菌剂的添加量均为堆体干质量的 0.1%,以不加菌剂为对照组(CK),分别设置 5 个试验组,具体如下表 2 所示。

表 2 堆肥试验设计

Table 2 Experimental design of compost

组 Group	冷适应性菌剂 Cold-adapted bacterial agent	超高温菌剂 Ultra-high temperature bacterial agent
CK	—	—
T1	第 0 天加入	—
T2	—	第 0 天加入
T3	第 0 天加入	第 0 天加入
T4	第 0 天加入	第 2 天加入
T5	第 0 天加入	第 4 天加入

1.3.2 堆肥样品采集

每次翻堆前对堆肥样品进行取样,从堆体的上、中、下部分分别取样后混匀作为供试样品,其中一部分直接用于测定 pH、电导率、种子发芽指数,其余部分风干磨碎过 0.85 mm 筛后用于测定总有机碳、总氮、有效磷、速效钾、铵态氮、硝态氮的含量。

1.4 堆肥指标的测定方法

每天 14:00 分别对堆体上、中、下层分别测温,取平均值作为当天的堆体温度。

取 10 g 鲜样与去离子水按 1:10 的比例混合,160 r·min⁻¹ 振荡 1 h,取下后静置 30 min,过滤得到清液分别进行 pH 和电导率的测定。

总有机碳采用重铬酸钾容量法测定,总氮采用凯氏定氮法测定^[27]。

硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)采用盐酸浸提-紫外分光光度法测定^[28]。铵态氮($\text{NH}_4\text{-N}$)采用蒸馏后直接滴定法测定^[29]。

有效磷采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定^[30],速效钾采用乙酸铵提取-火焰光度法测定^[31]。

堆肥样品毒性评价用种子发芽指数表示:用堆肥样品浸提液浸透滤纸放入培养皿中,放置 10 颗大小均匀、饱满的小白菜种子,以蒸馏水培养结果为对照,在 25 °C 恒温培养箱中避光培养 72 h^[32],得到堆肥样品的种子发芽指数(GI)。

$GI = \text{堆肥浸提液培养种子发芽数} \times \text{根长} / (\text{去离子}$

水培养种子发芽数×根长)

1.5 统计分析

堆肥试验数据用 Excel 2019、Origin Pro 2021 软件进行分析、绘图,显著性分析利用 SPSS 26 软件完成。

2 结果与分析

2.1 冷适应性菌剂的制备

2.1.1 冷适应性菌株的筛选

在 10 ℃ 条件下,从样品浸提稀释液中培养纯化出的菌株共 27 株,其中细菌 16 株(L1~L16)、真菌 11 株(P1~P11),均可在低温条件下生长。将验证纯化后的菌株接种到纤维素刚果红培养基后,筛选出有透明圈的菌株 5 株,其中细菌 4 株(L2、L3、L4、L9)、真菌 1 株(P5),各菌株的透明圈数值见表 3。

表 3 菌株纤维素降解能力

Table 3 Cellulose degradability of strains

菌株编号 Strains number	透明圈直径(D) Transparent ring diameter/cm	菌落直径(d) Colony diameter/cm	D/d
L2	5.52±0.10	2.79±0.03	1.98
L3	5.18±0.05	0.92±0.02	5.63
L4	7.13±0.02	2.81±0.01	2.54
L9	5.95±0.04	1.95±0.02	3.05
P5	6.05±0.09	3.88±0.02	1.56

从表 3 可以看出,菌株 L3、L4、L9 的 D/d 值较大,说明其对纤维素的总体降解能力较强,因此选择菌株 L3、L4、L9 用于后续试验。

2.1.2 菌株鉴定

对菌株 L3、L4 和 L9 进行 PCR 扩增和序列(16S rDNA)的检测,并将检测结果与 National Library of

Medicine 数据库进行比对,结果显示 3 株菌株均属细菌界:菌株 L3 与芽孢杆菌属菌[Bacillus subtilis DSM 10(NR 027552.1)]相似度最高,为 99.93%,属于厚壁菌门杆菌纲芽孢杆菌目芽孢杆菌科芽孢杆菌属的一种枯草芽孢杆菌;菌株 L4 与假节杆菌属菌[Pseudarthrobacter chlorophenicus A6(NR 074518.1)]相似性达到 99.13%,属于放线菌门放线菌纲微球菌目微球菌科假节杆菌属的一种氯酚假节杆菌;菌株 L9 与普里斯特氏菌属菌[Priestia aryabhatai B8W22 (NR 115953.1)]亲缘关系最近(相似性为 99.93%),分类学上属于厚壁菌门杆菌纲芽孢杆菌目芽孢杆菌科普里斯特氏菌属的一种巨大普里斯特氏菌。

2.2 冷适应性菌剂与超高温菌剂联合应用的堆肥效果评价

2.2.1 堆体温度变化规律

温度能直接反映出堆肥的进程及其腐熟程度,通过不同堆体间的温度差异能清晰直观地认识到其内部的变化。堆肥整体进程可分为起爆期、高温期及腐熟期,起爆期为微生物在堆体中的适应期,有机物质的降解主要发生在高温期,高温期过后堆体内部在腐熟期中逐渐趋向稳定。如图 1 所示,CK、T1、T2 组的最高温度分别达到 47.5、55.3、46.6 ℃,3 组差异不大,均未能达到《生物质废物堆肥污染控制技术规范》(HJ 1266—2022)中对发酵温度及持续时间的要求。

而 T3、T4、T5 组均添加了冷适应性菌剂及超高温菌剂,堆体升温迅速。3 组分别在堆肥开始第 3、3、5 天进入高温期,分别在第 5、6、7 天达到最高温度 79.0、80.3、78.6 ℃。高温期≥55 ℃的时间均达到了 9 d 以上;≥65 ℃的时间均达到了 7 d,达到了 HJ 1266—2022 的要求。T5 组温度在第 4 天有下降趋势,在添

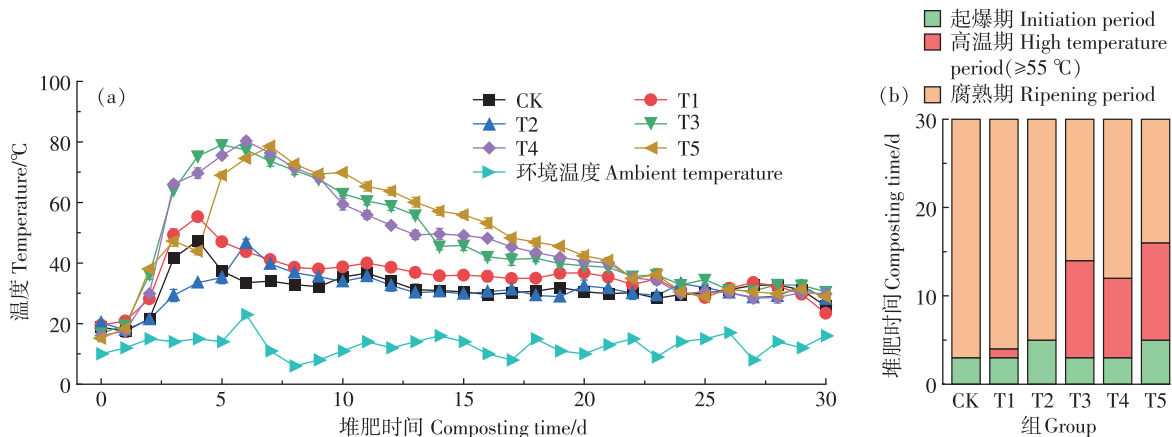


图 1 堆肥过程中温度变化及各时期持续时间

Figure 1 Temperature changes during composting and duration of each period

加超高温菌剂后温度迅速上升。

2.2.2 堆肥过程中pH及电导率变化规律

pH能体现出堆肥过程中酸碱物质等的动态平衡关系,同时也能表示堆体中微生物的生存环境是否适宜。如图2a所示,整个堆肥过程中pH变化规律为先上升后下降,在堆肥结束时处于8.16~8.34范围内。CK、T1、T2组pH在第7天升高到8.33左右;而T3、T4、T5组分别在第4、4、5天达到8.62左右,更偏碱性。其中T3、T4组变化趋势一致,T5组前4 d的变化趋势与T1组高度相似,但第4天加入超高温菌剂后,T5组pH上升的趋势明显高于T1组。这说明在高温期会产生大量氨气导致堆体pH上升,但这也增加堆体氮素损失风险。

电导率代表堆体中可溶性盐的含量,能反映堆体中有机物质的矿化及降解情况,同时成品物料的电导率也能表明其安全程度,根据《绿化用有机基质》(GB/T 33891—2017),用于土壤改良的堆肥成品电导率应在 $0.5\sim 3.5\text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ 范围内,如果电导率过高会形成反渗透压使植物脱水枯萎。如图2b所示,6组整体上呈现先下降后上升的趋势,但CK、T1、T2组的变化

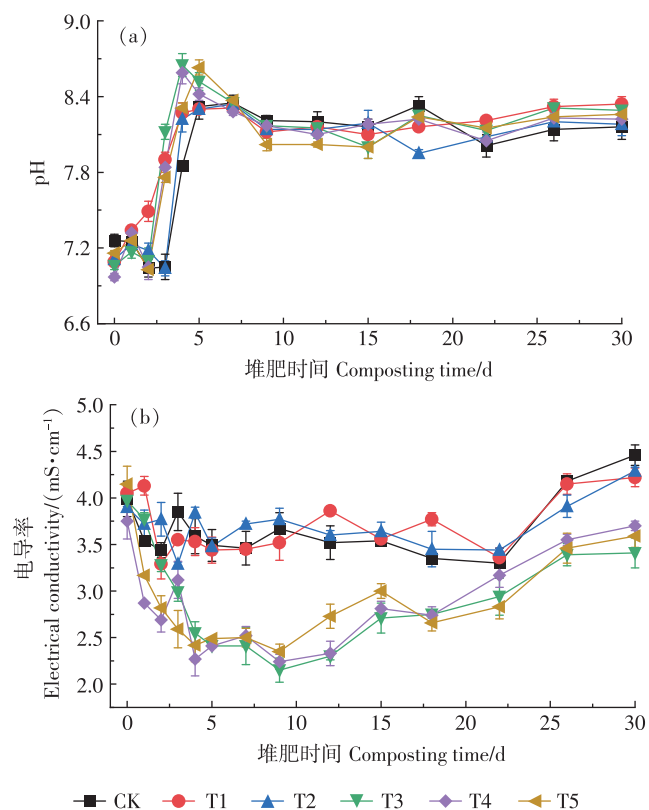


图2 堆肥过程中pH及电导率的变化

Figure 2 Changes of pH and electrical conductivity during composting

幅度较T3、T4、T5组小得多,且后期上升幅度较大,超过了标准的安全限值,堆肥结束时只有T3组的电导率未超过 $3.5\text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$,处于安全施用范围内,而T4、T5组的电导率分别为3.70、3.59,略超过标准限值,可稀释后施用。

2.2.3 堆肥过程中C/N变化规律

堆体总有机碳的变化可以代表堆肥过程中有机质的变化,6组总有机碳均呈现下降趋势(图3a)。高温期结束时,添加两类菌剂的T3、T4、T5组的总有机碳降解率分别为31.4%、28.70%、33.2%。堆肥结束时6组的总有机碳降解率表现为T3(45.3%)>T4(36.3%)>T5(36.1%)>T1(24.6%)>T2(19.9%)>CK(19.0%)。

从图3b可以看出,6组的总氮含量在整个堆肥过程中变化幅度均不大,在 $10\sim 20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内,均呈现先上升后下降的趋势。在高温期,T3、T4、T5组总氮上升幅度明显高于CK、T1、T2组。堆肥结束时各组总氮含量在 $12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右,各组差异不显著。

堆肥过程中,C/N是影响微生物生长进而影响堆体升温 and 有机物质降解的重要因素之一,微生物利用

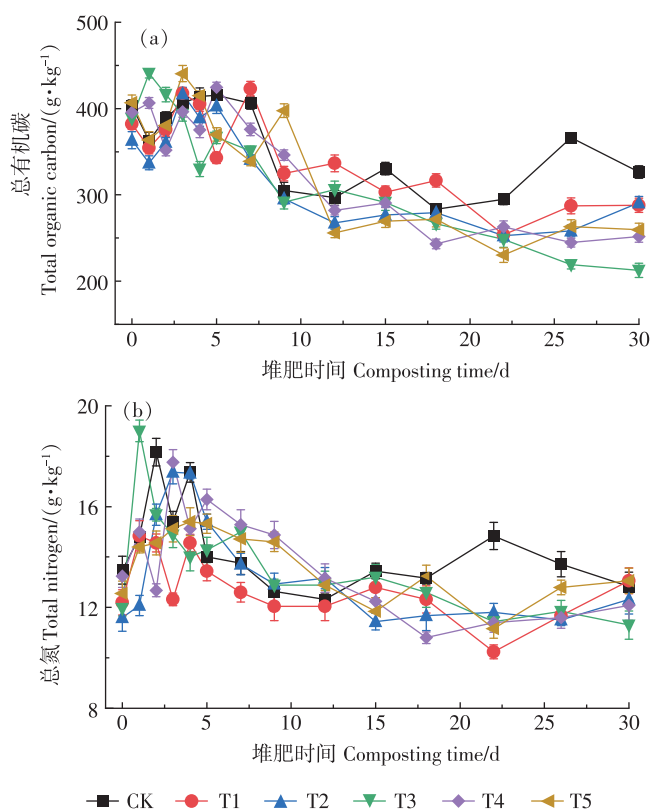


图3 堆肥过程中总有机碳及总氮的变化

Figure 3 Changes of total organic carbon and total nitrogen during composting

有机物质的最佳C/N为25~35,随着堆肥进行C/N不断下降。从图4可以看出,堆肥结束时CK、T1、T2组的C/N分别为25.43、22.05、23.62,而T3、T4、T5组的C/N分别降到了18.80、20.84、19.89,与前3组差异显著。

2.2.4 堆肥过程中铵态氮及硝态氮变化规律

堆肥过程中,铵态氮和硝态氮的变化是堆肥腐熟度评价的常用指标之一。铵态氮是通过微生物将有机氮化物矿化分解转化而来的,该过程主要发生在高温期。如图5a所示,由于CK、T1、T2组在堆肥中期温度低而使得铵态氮含量上升幅度有限,最高分别为511.0、544.5、518.1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;而T3、T4、T5组微生物活动剧烈,分别在第2、3、4天达到拐点649.3、631.6、613.2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。这说明高温期产生了大量铵根离子,但随着温度及pH上升,发生中和反应造成氮元素挥发,加上后期铵态氮成为硝化作用的原料,其含量开始下降,最终分别下降到208.5、204.9、210.3、143.1、150.9、152.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,这也是氮损失的主要途径之一。

通过亚硝化作用及硝化作用,硝化细菌将含氮化合物转化为硝态氮,硝态氮含量上升也标志着堆体逐渐趋向腐熟。从图5b中可以看出T1、T3、T4、T5组由于加入了冷适应性菌剂,堆体升温快,硝态氮含量在堆肥第2天达到最大值。随后T3、T4、T5组进入高温期,硝化细菌受温度限制导致硝态氮含量开始下降,腐熟期温度下降硝态氮含量又开始回升。堆肥结束时T3、T4、T5组的硝态氮含量显著高于CK、T1、T2组,达到510 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右,说明腐熟程度高于前3组。

2.2.5 堆肥过程中有效磷及速效钾变化规律

随着堆肥的进行,6组的有效磷及速效钾含量均在上升(图6)。从图6a中可以看到,对于CK、T1、T2组来说,随着堆肥进行,堆体有效磷含量始终在平稳

增长,堆肥结束时增长了437.3%、448.0%、350.0%;T3、T4组在第1~4天属于快速增长阶段,分别增长了248.8%、294.5%,第5~15天增长变得缓慢,腐熟阶段又再次增长,最终增长了662.9%、604.5%;而T5组由于超高温菌剂加入较晚,其增长最快的阶段为第2~5天,增长了197.9%,随后的积累规律与T3、T4组相同,第30天时增长了497.3%。

如图6b所示,速效钾含量在堆肥过程中不断上升,堆肥结束时CK及T1~T5组的速效磷增长率分别为501.4%、818.5%、774.1%、1204.2%、1174.6%、981.4%,T3、T4、T5组与CK、T1、T2组差异显著。

2.2.6 堆肥产品的毒性评价

种子发芽指数是评价堆肥成品毒性最直观的标志,同时也能揭示堆肥过程中堆体的腐熟程度变化。从图7可以看出,6组的种子发芽指数均处于上升状态,在堆肥结束时均 $\geq 70\%$,符合《有机肥料》(NY/T 525—2021)的要求。其中T3、T4、T5组的种子发芽指数为118.6%、112.3%、108.7%,与CK、T1、T2组的90.5%、90.3%、95.4%差异显著;T3组与T5组的种子发芽指数之间有着显著性差异,但这两组与T4组的差异均未达到显著水平。

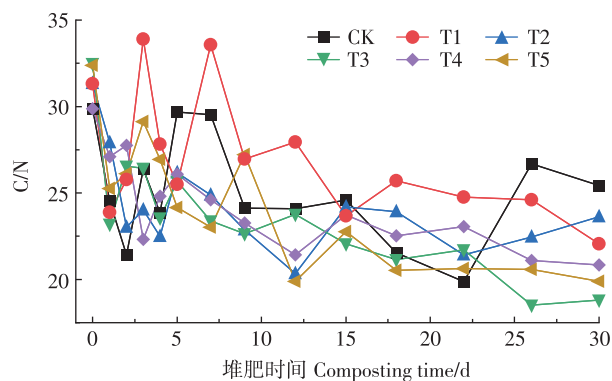


图4 堆肥过程中C/N的变化

Figure 4 Changes of C/N during composting

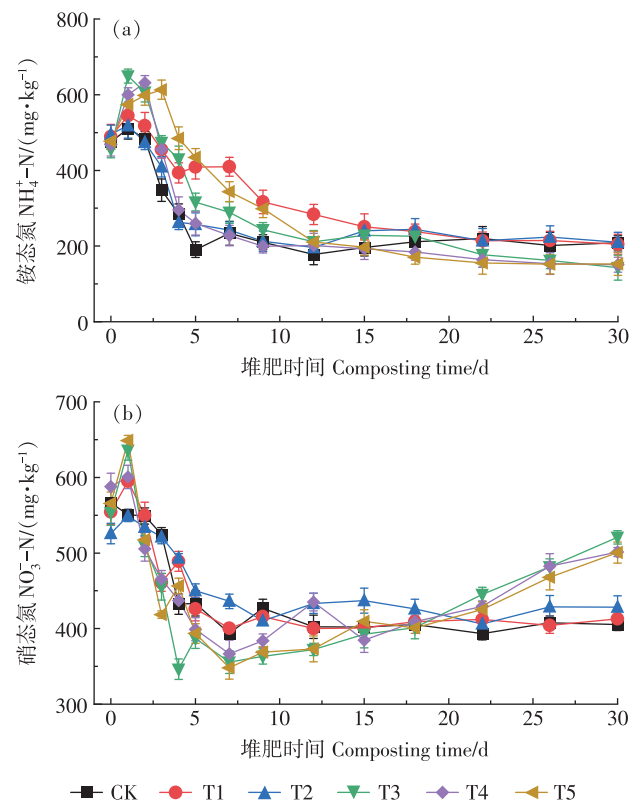


图5 堆肥过程中铵态氮及硝态氮的变化

Figure 5 Changes of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ during composting

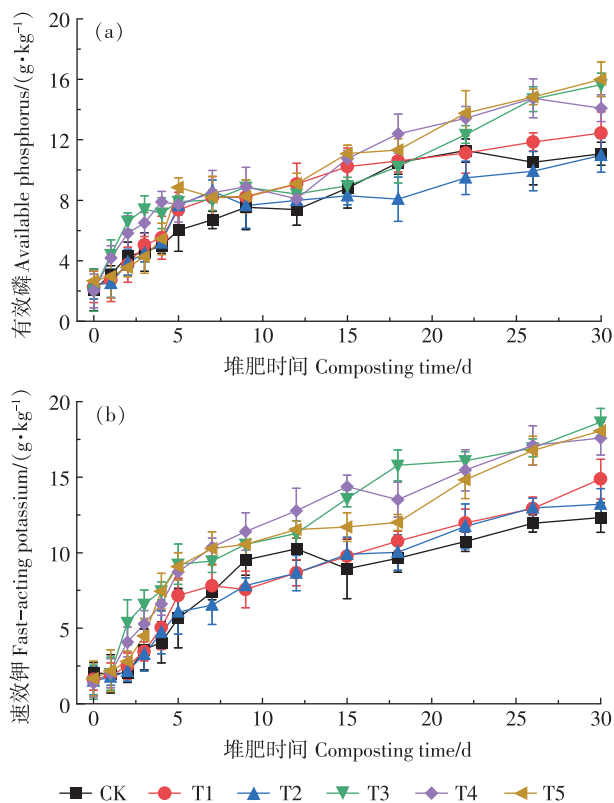


图6 堆肥过程中有效磷及速效钾的变化

Figure 6 Changes of available phosphorus and fast-acting potassium during composting

3 讨论

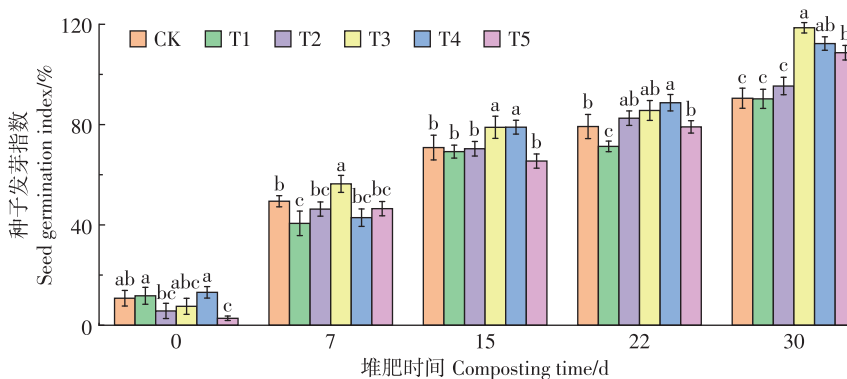
堆肥是有机物料在微生物作用下发生的有机物质分解及腐殖质形成的生化过程^[33],堆肥的整体进程伴随着温度、C/N等理化参数的动态变化。微生物通过自身生物氧化作用代谢营养物质,产生大量能量^[34],这些能量一部分被微生物利用,另一部分转化

为热能,促使堆肥发酵物升温^[35]。

从温度来看,与CK组相比,单加冷适应性菌剂的T1组能使堆体度过起爆期,但无法进入高温期,而T2组因为超高温菌剂没有发挥作用,温度变化与CK组相似。在此前提下,设置冷适应性及超高温两类菌剂联合加入堆体,与T1组对比发现,T3、T4、T5组在度过起爆期后温度并没有下降,而是在超高温菌剂的作用下继续升温,使得堆体温度达到80℃左右,高温期(≥ 65 ℃)持续7 d。

总有机碳、C/N、种子发芽率等指标也能从侧面证明微生物在整个堆肥过程中的作用,也能表明堆体何时趋向成熟。T3、T4、T5组的总有机碳降解率显著高于CK、T1、T2组,其中最高的T3组比CK组高26.35%;而总氮含量虽然整体变化不大,但由于堆肥完成时堆体总质量下降,说明存在氮素损失;当C/N下降到15~20时一般可认为有机肥料腐熟完成,品质逐渐趋于稳定,T3组C/N下降幅度最大,腐熟度较高,且在第26天时就已经降到20以下。T3、T4、T5组的种子发芽指数及其增长速度显著高于CK、T1、T2组。从上述结果分析,T3、T4、T5组整体腐熟程度较高,成品较稳定,这充分说明在低温条件下,起爆期需要有冷适应性菌剂来帮助堆体温度快速升高^[8],才能为超高温菌剂在高温期快速分解有机物质提供良好的环境,而超高温菌剂能使堆体腐熟度大幅提升,25 d即可完成堆肥。

T3、T4、T5组对比发现,T3组的各项指标表现都很稳定。T3、T4组在经过起爆期后都顺利进入高温期,在超高温菌剂的作用下对有机物质进行快速分解;T5组在前4 d的温度变化与T1组一致,第4天有下降趋势,加入超高温菌剂后,第5天开始迅速升温,



图中数值为平均数±标准误差(n=3);不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

Values are represented with mean ± standard error of mean (n=3); different lowercase letters indicate significant differences among treatments (P<0.05).

图7 堆肥过程中种子发芽指数的变化

Figure 7 Changes of seed germination index during composting

但其堆肥效果不如T3组,可能是由于超高温微生物适应环境时间短导致的^[36]。在实际应用中,如果超高温菌剂加入不及时,可能会使两类菌剂的衔接出现问题,导致堆肥无法完成。从总体来看,超高温菌剂加入时间越早,其适应环境的时间越短,堆体升温越顺利,堆肥进程越稳定。

4 结论

(1)从常年堆积玉米秸秆场所下的土壤与玉米秸秆混合样品中,筛选出3株能在10℃的环境下快速生长繁殖且能分泌纤维素酶的菌株,分别是枯草芽孢杆菌、氯酚假节杆菌、巨大普里斯特氏菌,将其制成冷适应性菌剂后有助于堆体在低温条件下升温。

(2)在低温条件下,仅使用冷适应性菌剂或超高温菌剂堆肥结果均不甚理想,而冷适应性菌剂和超高温菌剂联合应用堆肥效果提升显著。在10~15℃的环境下,堆体可在第3天进入高温期,最长持续11d,最高温度达到80℃左右,总有机碳降解率最高达到45.3%,有效磷含量提升662.9%,速效钾含量提升1204.2%,种子发芽指数提升至118.6%,且在25d内即可完成堆肥。

(3)在堆肥第0天加入冷适应性菌剂的前提下,超高温菌剂加入时间越靠前,堆肥效果越好。

参考文献:

- [1] 康鑫, 孙堂旭, 于新敏. 秸秆还田的应用及其对环境的影响研究[J]. 再生资源与循环经济, 2020, 13(4):27-30. KANG X, SUN T X, YU X M. Application of straw returning and its impact on the environment[J]. *Recyclable Resources and Circular Economy*, 2020, 13(4):27-30.
- [2] 姜延, 李思达, 马秀兰, 等. 东北黑土区农业废弃物资源化利用研究进展[J]. 吉林农业大学学报, 2022, 44(6):706-716. JIANG Y, LI S D, MA X L, et al. Research progress of agricultural waste resource utilization in the black soil region of northeast China[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2022, 44(6):706-716.
- [3] 薛颖昊, 冯浩杰, 孙仁华, 等. 农作物秸秆肥料化利用研究文献计量分析[J]. 中国农业资源与区划, 2023, 44(1):108-118. XUE Y H, FENG H J, SUN R H, et al. Bibliometric analysis of crop straw fertilizer utilization[J]. *Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning*, 2023, 44(1):108-118.
- [4] 霍丽丽, 赵立欣, 孟海波, 等. 中国农作物秸秆综合利用潜力研究[J]. 农业工程学报, 2019, 35(13):218-224. HUO L L, ZHAO L X, MENG H B, et al. Study on straw multi-use potential in China[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2019, 35(13):218-224.
- [5] 丛宏斌, 姚宗路, 赵立欣, 等. 中国农作物秸秆资源分布及其产业体系与利用路径[J]. 农业工程学报, 2019, 35(22):132-140. CONG H B, YAO Z L, ZHAO L X, et al. Distribution of crop straw resources and its industrial system and utilization path in China[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2019, 35(22):132-140.
- [6] 叶鑫, 张鑫, 隋世江. 有机肥替代化肥氮对稻田面水氮素浓度变化及产量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2023, 45(2):137-142. YE X, ZHANG X, SUI S J. Effects of replacing chemical fertilizer nitrogen with organic fertilizer on changes of nitrogen concentration in paddy field surface water and rice yield[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2023, 45(2):137-142.
- [7] 怀宝东, 隋文志, 赵晓锋, 等. 北方寒区农业废弃物和复合菌剂与牛粪混合堆肥的无害化处理效果[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2020, 32(4):1-7. HUAI B D, SUI W Z, ZHAO X F, et al. Harmless treatment effect of mixed composting of agricultural waste compound bacteria and cow manure in the cold region of north China[J]. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University*, 2020, 32(4):1-7.
- [8] 杨明珠, 许欢欢, 郭传旭, 等. 堆肥低温启动菌剂的研制与效果评价[J]. 生态与农村环境学报, 2024, 40(1):138-146. YANG M Z, XU H H, GUO C X, et al. Development of the low-temperature composting initiating bacterial agent and the efficiency evaluation[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2024, 40(1):138-146.
- [9] 解新宇, 赵越, 张书博, 等. 低温菌强化堆肥起爆进程中细菌群落响应机制[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(11):2395-2404. XIE X Y, ZHAO Y, ZHANG S B, et al. Mechanisms of bacterial community response to hypothermia-enhanced compost start-up process[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(11):2395-2404.
- [10] WANG S F, WU Y Q. Hyperthermophilic composting technology for organic solid waste treatment: recent research advances and trends[J]. *Processes*, 2021, 9(4):675.
- [11] 刘子乐, 白林, 胡红文. 超高温堆肥及其资源化与无害化研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(1):119-127. LIU Z L, BAI L, HU H W. Research progress on hyperthermophilic composting and its resource and harmlessness[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2021, 23(1):119-127.
- [12] 余震, 周顺桂. 超高温好氧发酵技术:堆肥快速腐熟与污染控制机制[J]. 南京农业大学学报, 2020, 43(5):781-789. YU Z, ZHOU S G. Hyperthermophilic composting of organic solid wastes: accelerated humification and pollution control mechanisms[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2020, 43(5):781-789.
- [13] QIAO C C, PENTON C R, LIU C, et al. Key extracellular enzymes triggered high-efficiency composting associated with bacterial community succession[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 288:121576.
- [14] 郭刚, 俞飞飞, 马超, 等. 腐熟剂对茭白秸秆堆肥腐熟效果的影响[J]. 土壤与作物, 2023, 12(3):306-313. GUO G, YU F F, MA C, et al. Efficacy of decomposing agents on water oat straw composting[J]. *Soils and Crops*, 2023, 12(3):306-313.
- [15] 张书敏, 徐凤花, 代欢, 等. 低温复合菌系对玉米秸秆与牛粪堆肥的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2017(2):136-140. ZHANG S M, XU F H, DAI H, et al. Effects of hypothermia strains on corn straw and cow dung compost[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2017

- (2):136-140.
- [16] ZHEN Y, LIU X M, ZHAO M H, et al. Hyperthermophilic composting accelerates the humification process of sewage sludge: molecular characterization of dissolved organic matter using EEM- PARAFAC and two-dimensional correlation spectroscopy[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 274:198-206.
- [17] CHEN X J, WU C J, LI Q Y, et al. Effect of thermophilic microbial agents on antibiotic resistance genes and microbial communities during co-composting of pig manure and tea stalks[J]. *Sustainability*, 2022, 14(19):12593.
- [18] HU X R, YANG Y C, ZHOU K, et al. Verification of agricultural cleaner production through rice-duck farming system and two-stage aerobic composting of typical organic waste[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 337:130576.
- [19] 崔鹏, 艾超凡, 廖汉鹏, 等. 超高温堆肥微生物群落强化产热功能特征分析[J]. 土壤学报, 2022, 59(6):1660-1669. CUI P, AI C F, LIAO H P, et al. Characteristics of Enhanced microbial thermogenic functions in hyperthermophilic composting[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(6):1660-1669.
- [20] 单建荣, 全鑫, 朱用哲, 等. 一株低温纤维素降解菌的筛选与产酶条件优化[J]. 生态学杂志, 2021, 40(4):1128-1136. SHAN J R, QUAN X, ZHU Y Z, et al. Screening of a low-temperature cellulose-degrading bacterium and optimization of cellulase production conditions[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2021, 40(4):1128-1136.
- [21] 周东兴, 刘煜, 葛闫, 等. 一株纤维素降解菌株筛选及在低温好氧堆肥起爆应用[J]. 东北农业大学学报, 2023, 54(4):45-54. ZHOU D X, LIU Y, GE Y, et al. Screening of a lignocellulose degradation psychrotrophs and application to starter of low temperature aerobic composting[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2023, 54(4):45-54.
- [22] 陈俊文, 刘庆华, 庞学勇. 一株厚壁隔孢伏革菌的筛选及木质纤维素降解特性[J]. 西南农业学报, 2023, 36(11), 2491-2499. CHEN J W, LIU Q H, PANG X Y. Screening of a *Peniophora crassitunicata* and its lignocellulosic degradation characteristics[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 36(11), 2491-2499.
- [23] 梁家灿, 聂强, 周晓罡, 等. 一株蔗渣纤维素降解细菌的筛选与鉴定[J]. 昆明学院学报, 2023, 45(3):98-103. LIANG J C, NIE Q, ZHOU X G, et al. Screening and identification of a cellulose bacteria from bagasse[J]. *Journal of Kunming University*, 2023, 45(3):98-103.
- [24] 柳文睿. 菌剂制备及其对除草剂污染土壤的修复研究[D]. 沈阳: 沈阳工业大学, 2023:13-14. LIU W R. Research on preparation of microbial agent and its remediation of herbicide-contaminated soil [D]. Shenyang:Shenyang University of Technology, 2023:13-14.
- [25] 林金钧. 2种复合除草剂降解菌剂的制备与性状分析[J]. 环境工程, 2022, 40(8):178-184. LIN J G. Preparation and property analysis of two compound herbicide-degrading microbial agents[J]. *Environmental Engineering*, 2022, 40(8):178-184.
- [26] 张浩, 张荣胜, 齐中强, 等. 生防菌解淀粉芽孢杆菌Lx-11悬乳剂研制及其对水稻白叶枯病的防治效果评价[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(2):393-403. ZHANG H, ZHANG R S, QI Z Q, et al. Study of *Bacillus amyloliquefaciens* Lx-11 suspension formulations and evaluation its control effect on bacterial blight of rice[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38(2):393-403.
- [27] 朱义娟, 肖红琳, 刘洋廷, 等. 凹凸棒土添加对结球甘蓝废弃物堆肥腐殖化过程的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(9):2130-2139. ZHU Y J, XIAO H L, LIU Y T, et al. Effects of attapulgite on the humification of cabbage waste composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(9):2130-2139.
- [28] 王法军, 韩秋敏, 周宁. 园林废弃物堆肥应用研究[J]. 南方农机, 2022, 53(5):45-47. WANG F J, HAN Q M, ZHOU N. Research on application of garden waste compost[J]. *China Southern Agricultural Machinery*, 2022, 53(5):45-47.
- [29] GONG X Q, CAI L L, LI S Y, et al. Bamboo biochar amendment improves the growth and reproduction of *Eisenia fetida* and the quality of green waste vermicompost[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 156:197-204.
- [30] 庄向婷, 强敏敏, 叶超. 集约化养猪场粪污堆肥对菜地土壤污染的影响[J]. 水土保持研究, 2023, 30(5):462-467. ZHUANG X T, QIANG M M, YE C. Influence of manure compost from intensive pig farm on pollution of vegetable soil[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2023, 30(5):462-467.
- [31] 韩聪颖, 王星怡, 马永杰, 等. 气化滤饼对枸杞枝条堆肥进程、品质和碳氮损失的影响[J]. 西北农业学报, 2023, 32(9):1445-1455. HAN C Y, WANG X Y, MA Y J, et al. Effect of gasification filter cake on composting process, quality, and carbon and nitrogen loss of *Lycium barbarum* branches[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2023, 32(9):1445-1455.
- [32] 齐熙平, 黄懿梅, 贾鹏辉, 等. 葡萄枝堆肥腐殖化的微生物养分限制机理探讨[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(4):901-911. QI X P, HUANG Y M, JIA P H, et al. Exploring the microbial nutrient limitation mechanisms of grape branch compost humification[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(4):901-911.
- [33] 朱桃川, 李泽康, 明玉飞, 等. 膨润土和腐植酸对猪粪堆肥Zn、Cu钝化和微生物群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(4):937-946. ZHU T C, LI Z K, MING Y F, et al. Effects of bentonite and humic acid on Zn and Cu passivation and microbial communities in pig manure composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(4):937-946.
- [34] QI H S, ZHAO Y, WANG X, et al. Manganese dioxide driven the carbon and nitrogen transformation by activating the complementary effects of core bacteria in composting[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 330:124960.
- [35] QI H S, ZHAI W H, DU Y, et al. Core bacterial community driven the conversion of fulvic acid components during composting with adding manganese dioxide[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 337:125495.
- [36] 刘东明, 孟繁华, 郝艳, 等. 微生物菌剂对堆肥功能微生物重构的影响[J]. 环境科学研究, 2020, 33(9):2011-2019. LIU D M, MENG F H, HAO Y, et al. Effect of microbial agent on reconstruction of functional microbes in compost[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(9):2011-2019.

(责任编辑:李丹)