

文章编号: 1008-1542(2023)01-0074-09

炭基微生物菌剂促进牛粪好氧堆肥 腐熟过程研究

范玉本¹, 展恩欣², 李清向¹, 司洪宇², 刘建民³, 王志新¹, 梁晓辉²

(1. 河北科技大学食品与生物学院, 河北石家庄 050018; 2. 山东省科学院能源研究所, 山东济南 250014; 3. 山东惠仕莱生物科技有限公司, 山东济南 250014)

摘要:为评估炭基微生物菌剂促进牛粪好氧堆肥的腐熟效果,以牛粪为原料加入自制炭基微生物菌剂进行为期34 d的堆肥试验,并以纯牛粪为空白对照,研究堆肥过程中理化指标和微生物群落的变化。结果表明,添加炭基微生物菌剂后,1 d内可使堆温达到53℃,堆体最高温度为71.7℃,较对照组最高温度高出4.6℃,且高温期延长3 d。至堆肥结束时,处理组和对照组的含水率、 E_4/E_6 、GI分别为29%和33%,1.5和1.9,145.5%和127.6%。通过相关性分析得出,累计温度、含水率、pH值等理化指标相关性数值增大为67%,与细菌门水平间相关性数值增加了56%。添加0.1%(w/w)的炭基微生物菌剂可加快腐熟过程,提高微生物多样性,加快微生物群落的演替和对物料的分解代谢,促进腐熟进程,为炭基微生物菌剂在好氧堆肥中的应用提供了理论依据。

关键词:应用微生物学;炭基微生物菌剂;好氧堆肥;牛粪;腐熟;细菌群落

中图分类号:X713

文献标识码:A

DOI:10.7535/hbkd.2023yx01009

Study on the promotion of composting process of cow dung aerobic composting by biochar-based microbial agents

FAN Yuben¹, ZHAN Enxin², LI Qingxiang¹, SI Hongyu², LIU Jianmin³,
WANG Zhixin¹, LIANG Xiaohui²

(1. School of Food Science and Biology, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018, China; 2. Energy Research Institute of Shandong Academy of Sciences, Jinan, Shandong 250014, China; 3. Shandong Huishilai Biotechnology Company Limited, Jinan, Shandong 250014, China)

Abstract: In order to evaluate the effect of biochar-based microbial agent on promoting the maturity of aerobic composting of

收稿日期:2022-10-16;修回日期:2022-12-15;责任编辑:王淑霞

基金项目:山东省技术创新引导计划(鲁渝科技协作)项目(2020LYXZ029)

第一作者简介:范玉本(1997—),男,河南洛阳人,硕士研究生,主要从事固体有机废弃物资源化利用方面的研究。

通信作者:王志新教授。E-mail:zhxwang0311@163.com

梁晓辉副研究员。E-mail:liangxh@sderi.cn

范玉本,展恩欣,李清向,等.炭基微生物菌剂促进牛粪好氧堆肥腐熟过程研究[J].河北科技大学学报,2023,44(1):74-82.

FAN Yuben, ZHAN Enxin, LI Qingxiang, et al. Study on the promotion of composting process of cow dung aerobic composting by biochar-based microbial agents[J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2023, 44(1): 74-82.

cow dung, a composting experiment was conducted with cow dung as raw material and self-made biochar-based microbial agent for 34 days, and the changes of physical and chemical indexes and microbial communities during composting were studied with pure cow drug as blank control. The results show that after adding biochar-based microbial agents, the composting temperature could reach 53 °C within 1 day, and the highest composting temperature is 71.7 °C, which is 4.6 °C higher than that of the control group, and the high temperature period is prolonged for 3 days. By the end of composting, the moisture content, E_4/E_6 and GI of treatment group and control group are 29% and 33%, 1.5 and 1.9, 145.5% and 127.6%, respectively. Through the correlation analysis, it is found that the correlation value of accumulated temperature, moisture content, pH value and other physiochemical indicators increases by 67%, and the correlation value with bacterial phylum level increases by 56%. Therefore, the addition of 0.1% (w/w) biochar-based microbial agent could accelerate the decomposition process, improve microbial diversity, accelerate the succession of microbial communities and the catabolism of materials, and promote the compost maturity process, which provides theoretical basis for the application of biochar-based microbial agents in aerobic composting.

Keywords: applied microbiology; biochar-based microbial agent; aerobic composting; cow dung; maturity; bacterial communities

好氧堆肥是畜禽粪便无害化、减量化和资源化的有效方式之一,其实质是微生物群落组成与温度演变相对应的过程及有机质的降解^[1]。好氧堆肥时,仅依靠原料中的微生物自然发酵,其周期较长,且高温期温度较低或维持时间较短,导致腐熟进程缓慢。有研究表明,添加微生物菌剂可缩短堆肥周期^[2],提高堆肥温度^[3],延长高温期^[4],促进堆肥腐熟过程并提高堆肥效率。

炭基微生物菌剂以生物炭为载体,负载功能微生物经复配^[5]和吸附^[6]制备而成。上述 2 种方法,均利用生物炭具有高比表面积和丰富的多孔结构,可为微生物的生长繁殖提供适宜的栖息地,从而提高微生物群落的丰度和多样性^[7-8]。将通过复配制备的炭基微生物菌剂用于猪粪堆肥时,可延长高温期,提高有机质降解能力,减少 NH_3 和 N_2O 的排放,同时提高细菌群落的丰度和多样性。通过吸附制备的炭基微生物菌剂,对细菌的缓释具有一定的效果,并能延长细菌的存活时间。基于炭基微生物菌剂的以上优良特性,制备炭基微生物菌剂并应用于好氧堆肥过程中,可使外源微生物达到定殖效果,在堆肥时持续发挥作用。有研究表明,在好氧堆肥时添加生物炭和微生物菌剂可使堆体升温更快,提高最高温度且缩短堆肥周期^[9-11]。

目前,有关炭基微生物菌剂对好氧堆肥的作用尚无系统研究。本研究以生物炭为载体,经固态发酵制备出炭基微生物菌剂,并应用到牛粪好氧堆肥,评估炭基微生物菌剂对好氧堆肥中理化性质的影响及微生物群落的变化规律,以期炭基微生物菌剂在好氧堆肥中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 堆肥原料

牛粪和杂草均来自济南市长清区恒源生态农业基地,根据其基本理化性质按照 3 : 1 进行混合,理化性质见表 1。

表 1 堆肥原料的理化性质

Tab. 1 Physiochemical properties of raw materials for composting

原料	含水率/%	有机碳/%	总氮/%	pH 值	碳氮质量比
牛粪	72.00	31.00	1.60	8.76	19.38
杂草	11.00	31.32	0.50	7.05	62.65
混合料	61.70	31.05	1.41	8.50	22.02

1.1.2 微生物菌株

所用嗜热微生物菌株为本实验室筛选,其编号分别为 X1(*Geobacillus thermodenitrificans*), X2(*Parageobacillus toebii*), SSZ(*Parageobacillus toebii*), JZ(*Geobacillus thermodenitrificans*) 和 YSP(*Geobacillus* sp.), 最适生长温度为 60~80 °C。

1.1.3 试剂

生物炭,山东环霸环保节能设备技术有限公司提供;营养肉汤等生物试剂,青岛高科技工业园海博生物技术有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 液体嗜热微生物的培养

取 1.8 g 营养肉汤溶于 100 mL 去离子水中,倒入 250 mL 锥形瓶中,于 121 °C 灭菌 20 min。将嗜热菌 X1 从平板接种至无菌营养肉汤中,置于水浴恒温振荡器中,在 65 °C,120 r/min 条件下培养 20 h 制成液体菌剂,嗜热菌 X2,SSZ,JZ 和 YSP 的培养方法同上。

1.2.2 炭基微生物菌剂制备

将 27 g 营养肉汤溶于 1 250 mL 去离子水中,并与 1 kg 生物炭混合均匀,于 121 °C 灭菌 2 h,制得富营养生物炭。将 1.2.1 中 5 种液体嗜热菌,各取 50 mL 加入至灭菌后富营养生物炭中,在 65 °C 培养箱中进行固态发酵。每天定时搅拌 2 次,培养 6 d。

1.2.3 堆肥试验

试验在济南市长清区恒源生态农业基地进行,采用条垛式好氧堆肥,共设 2 个处理,每个处理堆体约 4 t (长×宽×高=3.4 m×1.5 m×0.8 m),对照组不做处理,自然堆肥;处理组添加制备的炭基微生物菌剂,接种量为 0.1%(w/w),在堆肥初始阶段混合均匀。前期每 2 d 翻堆 1 次,15 d 后每 4 d 翻堆 1 次,堆肥时间共计 34 d。

堆肥当天及每次翻堆前取样,取样时分别在堆体两端及中间(1.7 m)处采集(视为 3 个重复),在每处不同高度(上层:0~10 cm;中层:35~45 cm;下层:70~80 cm)采集等量样品,并将其混合,测定不同时期样品的含水率、pH 值、电导率(EC)、腐殖酸和黄腐酸的比值(E_4/E_6)、种子发芽指数(GI)及微生物群落。

1.2.4 堆肥理化指标的测定

每天上午 10:00 测定温度,分别从堆体的 3 个不同位置测定 20 cm 处的温度,其平均值即为堆体温度,同时测定环境温度。含水率和 EC 的测定参照孟庆欣^[12]的方法。腐殖化指数 E_4/E_6 参照 MOHARANA 等^[13]的方法进行测定。pH 值和 GI 按照国标《有机肥料(NY/T 525—2021)》^[14]进行测定。

1.2.5 高通量测序

取起始阶段(0 d)混合均匀的样品,记为 C1;分别取对照组和处理组高温期(5 d)、降温期(17 d)和腐熟期(34 d)样品,对照组编号分别为 C2,C3 和 C4,处理组编号分别为 T2,T3 和 T4。将样品送至武汉百易汇能生物科技有限公司进行高通量测序和分析。

1.2.6 数据分析和处理

采用 Origin 2021 软件进行数据分析并作图。微生物群落分析数据由武汉百易汇能生物科技有限公司提供的云服务(<https://www.genescloud.cn/login>)完成。

2 结果与讨论

2.1 炭基微生物菌剂对牛粪好氧堆肥中理化指标的动态影响

2.1.1 理化指标的变化

本文研究了堆肥中温度、含水率、pH 值、EC、 E_4/E_6 和 GI 等理化指标的变化。由图 1 a)可知,0~3 d 为升温期,3~13 d 为高温期(≥ 50 °C),13~27 d 为降温期,27~34 d 为腐熟期。处理组升温迅速,1 d 内温度达到 53.0 °C,较对照组高 8.1 °C,较环境温度高 25.0 °C。在升温期与高温期,处理组与对照组的变化趋势相同,均先升高后降低,且最高温度都在第 5 d,分别为 71.7 °C 和 67.1 °C,高温维持时间分别为 13 d 和 10 d。13 d 时处理组的累计温度较对照组高 39.1 °C。降温期(13~27 d)对照组温度有所升高,处理组温度逐渐降低。腐熟期(27~34 d),温度均逐渐降低,接近环境温度。至堆肥结束,处理组的累计温度仍较对照组高 9.9 °C。高温期(≥ 50 °C)处理组(13 d)较对照组(10 d)延长 3 d,而对照组在降温期温度回升,这可能是对照组前期有机物未完全被微生物利用,导致堆体温度升高;而处理组前期有机物已被利用,故温度逐渐降低。

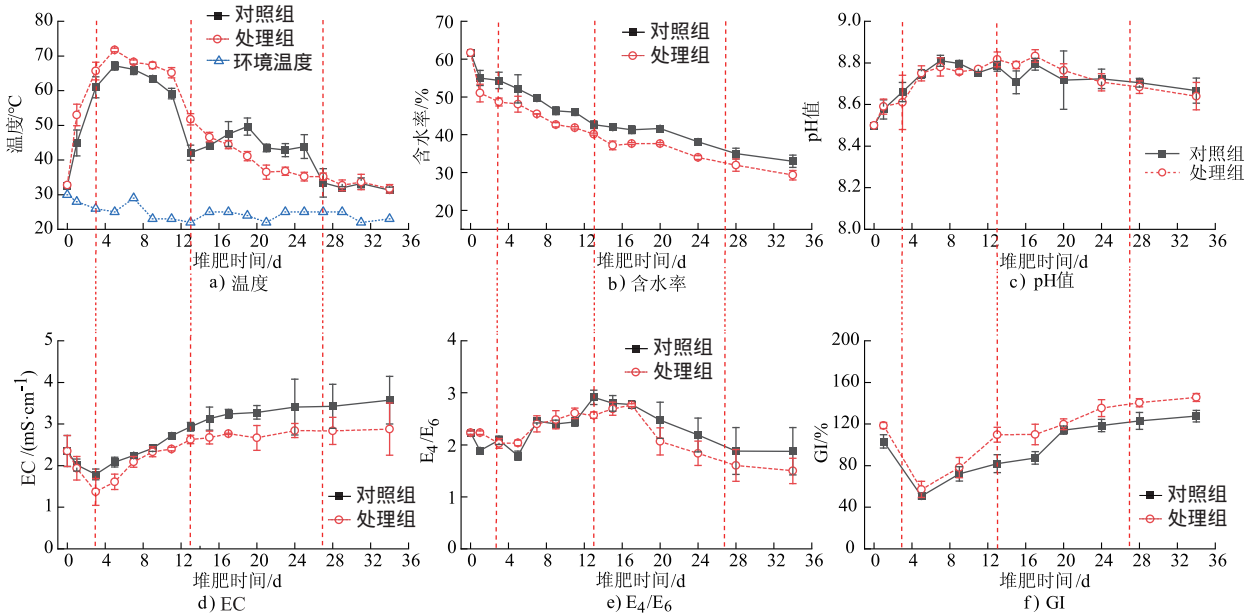


图 1 堆肥过程中温度、含水率、PH 值、EC、 E_4/E_6 和 GI 的变化

Fig. 1 Changes of temperature, moisture, pH, EC, E_4/E_6 and GI during composting processes

含水率均随堆肥过程逐渐下降(见图 1 b)),堆肥物料初始含水率为 61.7%,至堆肥结束时处理组和对照组的含水率分别降至 29.3%和 33.0%,且堆肥过程中处理组含水率始终比对照组低 3%~5%。合适的含水率是微生物生长繁殖必不可少的因素之一,50%~65%的含水率利于微生物的生长繁殖^[15]。在堆肥过程中,含水率随堆体温度的升高而逐渐降低,在升温期和高温期含水率的下降幅度最大,占总水分损失的 66.3%~66.5%。研究发现,处理组水分下降幅度较对照组增加,这主要是由于炭基微生物菌剂促进温度升高和高温期的延长,从而使水分下降速率增加。

对照组和处理组的 pH 值在整个堆肥过程中变化差异不大(见图 1 c)),变化趋势为先升高后降低,变化幅度为 0.4,至堆肥结束时 pH 值均在 8.7 左右。堆肥过程中,由于温度和水分的变化,会使氢离子浓度出现一定的变化,导致 pH 值发生改变。处理组和对照组的 pH 值变化趋势相同,堆肥前期产生铵态氮导致 pH 值升高^[16],但升温期和高温期由于氨气不断挥发、氨化作用减弱以及产生有机酸,使得 pH 值在 17 d 后缓慢下降^[17]。

图 1 d)为 EC 的变化,虽在升温期有所下降,但整体呈上升趋势,处理组始终较对照组低 0.2~0.7 mS/cm,至堆肥结束时对照组和处理组的 EC 分别为 3.6 mS/cm 和 2.9 mS/cm。对照组和处理组的 EC 变化趋势相似。EC 不仅可作为物料腐熟的标准,还可反映可溶性盐的变化^[18];孟庆欣^[12]使用牛粪和玉米秸秆堆肥的研究中 EC 变化趋势与本文一致,均为先降低后升高。堆肥结束时,EC 均小于 4.0 mS/cm,达到腐熟标准^[19],施用不会对农作物的生长产生抑制作用。

由图 1 e)可知,对照组和处理组的 E_4/E_6 在升温期变化不大,高温期逐渐增大,即腐殖酸(humic acid, HA)含量增加,黄腐酸(fulvic acid, FA)含量下降,致使芳构化程度增大。降温期 E_4/E_6 大幅度下降,在腐熟期趋于平缓。至堆肥结束,对照组和处理组的 E_4/E_6 分别为 1.9 和 1.5。 E_4/E_6 不仅反映堆肥过程中腐殖质的缩合度和芳构化程度,还是判断腐熟度的重要指标, E_4/E_6 的比值越低,腐殖质缩合度和芳构化程度越高^[4],并随腐殖酸缩合度的增大而减小。在堆肥进程中,大分子腐殖酸形成使 E_4/E_6 的比值趋于降低^[20],该结果与 MOHARANA 等^[13]的研究结果一致。添加炭基微生物菌剂能够促进腐殖酸的形成,同时可提高腐熟度。

GI 的变化如图 1 f)所示,其趋势为先降低后逐渐升高,且二者的变化趋势相同。经过高温期,处理组和对照组的 GI 分别为 109.7%和 81.9%。在降温期和腐熟期,处理组和对照组的 GI 仍缓慢上升,当堆肥结束时 GI 分别达到 145.5%和 127.6%。GI 是评估堆肥产品腐熟度和植物毒性大小的指标^[21]。堆肥初期产生的有机酸和酚类等物质,会抑制种子萌发^[22]。一般认为,GI 在 80%时达到腐熟标准^[23]。经过高温期,处理组 GI 为 109.7%,对照组为 81.9%;至堆肥结束,处理组和对照组的 GI 分别高出腐熟标准 65.5%和

47.6%。结果表明,添加炭基微生物菌剂后,仅经过高温期即可使 GI 超过腐熟标准,比对照组高出 28%,大幅提高了物料的腐熟度。

2.1.2 理化指标的综合分析

为综合分析处理组与对照组间理化指标的差异,将堆肥过程中累计温度、含水率、pH 值、EC、E₄/E₆ 和 GI 结合堆肥 4 阶段进行主成分分析,对照组和处理组的双标图(载荷图和分值图)分别如图 2 a)和图 2 c)所示,其中图 2 b)和图 2 d)分别为其局部放大图。对照组和处理组中理化指标间 Pearson 相关性如图 3 a)和图 3 b)所示。

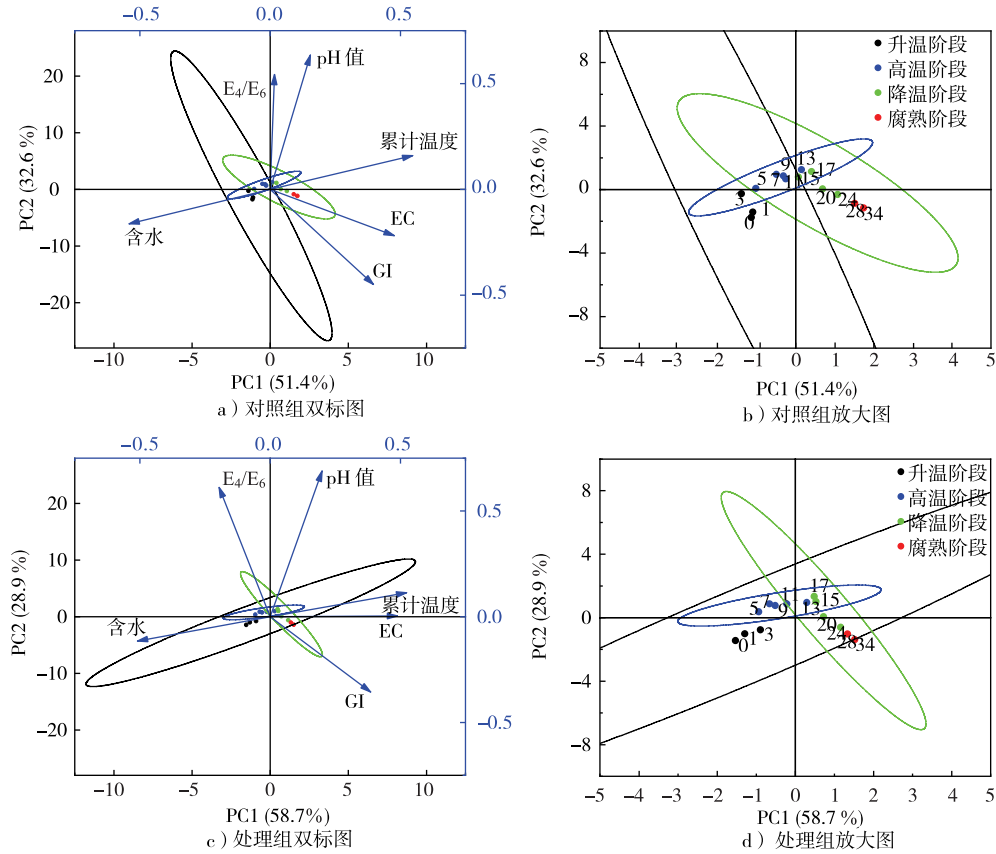


图 2 对照组和处理组在不同阶段中理化指标的主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of physicochemical indexes of control group and treatment group at different stages

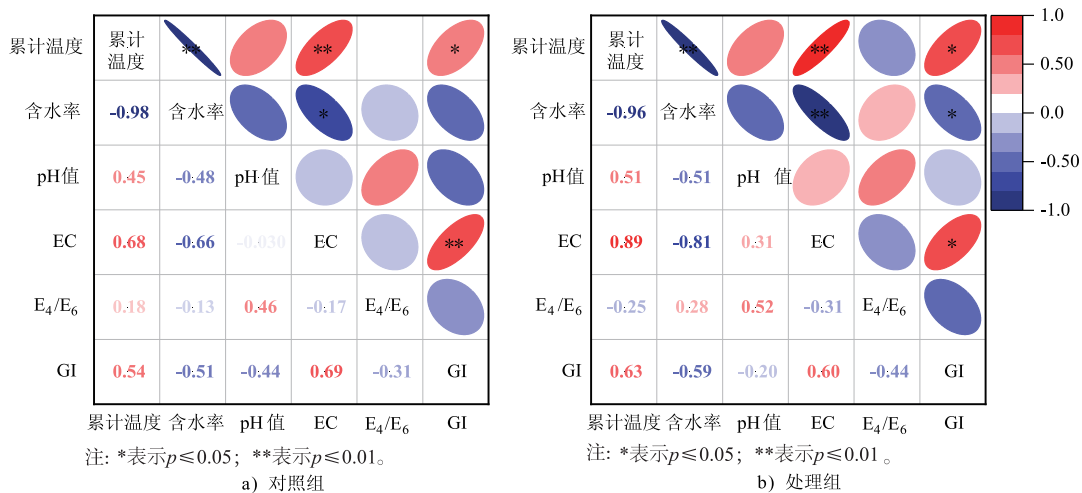


图 3 对照组和处理组理化指标的 pearson 相关性分析

Fig. 3 Pearson correlation analysis of physicochemical indexes of control group and treatment group

由图 2 a)和图 2 b)中载荷图的变化可知,处理组在加入炭基微生物菌剂后,EC 和 E₄/E₆ 与累计温度、含水率、pH 值、GI 等理化指标间的相关性发生变化;图 3 理化指标间 Pearson 相关性结果表明,EC 和累计

温度、含水率、 E_4/E_6 的相关性值均增大, E_4/E_6 与 pH 值、GI 的相关性值均增大。同时, EC 和 pH 值、 E_4/E_6 与含水率与的相关性由负相关变为正相关, E_4/E_6 与累计温度间由正相关变为负相关。此外, 对比处理组和对照组间 Pearson 相关性得出, EC 和含水率的相关性由显著 ($P \leq 0.05$) 变为极显著 ($P \leq 0.01$), 含水率与 GI 间由不显著变为显著 ($P \leq 0.05$)。对照组中累计温度与含水率间为负相关, 处理组加入炭基微生物菌剂后, 二者相关性未发生变化; 通过图 3 可进一步看出, 对照组和处理组中累计温度与含水率间均是极显著负相关 ($P \leq 0.05$)。由 Pearson 相关性分析可知, 上述理化指标间 15 个相关性中, 相关性增加的占比为 66.7%, 减少的占比为 20.0%, 相关性改变的占比为 13.3%。

从图 2 b) 和图 2 d) 中分值图的变化可知, 处理组堆肥过程中样品的分布较对照组均匀, 且同一阶段样品的分值较为紧凑, 表明样品间相似性高, 不同阶段间界限明显 ($P \leq 0.05$)。同时, 处理组升温阶段和高温阶段的样品均在各 95% 置信椭圆内, 同一阶段样品间距离较短, 相似性较高; 不同阶段样品间距离较远, 组间有较好的区分度。

单独分析处理组和对照组的温度、含水率和 pH 值等理化指标时, 只能对单一指标进行分析, 得出的结论不够全面, 不能综合分析出炭基微生物菌剂对理化指标间的影响; 而由主成分分析和 Pearson 相关性分析, 可准确得到理化指标间的变化趋势及结果。研究结果表明, 加入炭基微生物菌剂后, E_4/E_6 和 EC 与其他理化指标间的相关性发生明显改变 ($P \leq 0.05$), 这与 LI 等^[24] 在鸡粪堆肥中添加微生物菌剂的分析结果一致。同时, 累计温度、pH 值、EC、含水率、GI 与 pH 值、EC、GI、 E_4/E_6 和 pH 值、EC 的相关性有所增加。Pearson 相关性分析表明, 在理化指标间的 15 个相关性中, 相关性增加的占比为 66.7%。上述变化产生的原因可能是炭基微生物菌剂使堆体温度迅速上升, 有利于嗜热菌在高温期的大量定殖^[2]。同时, 温度是决定堆肥效率的关键^[26], 炭基微生物菌剂可使堆温升高、延长高温期, 加速含水率的下降, 使 pH 值和 EC 发生变化, 腐殖化指数 E_4/E_6 的比值降低, 提高 GI, 缩短堆肥周期, 提高了生物转化效率, 促进堆肥腐熟进程。

2.2 炭基微生物菌剂对牛粪好氧堆肥中细菌群落的影响

2.2.1 细菌群落的多样性分析

样品中细菌群落的 Alpha 多样性结果如表 2 所示。

表 2 微生物群落丰富度和多样性指数分析

Tab.2 Analysis of microbial community richness and diversity indices

样品	Chao1 指数	Shanon 指数	Coverage 指数
C1	869.66	5.675 4	0.997 90
C2	2 547.36	8.818 3	0.995 19
C3	1 282.86	7.080 3	0.995 91
C4	1 343.55	7.213 4	0.995 68
T2	1 987.29	8.358 9	0.992 99
T3	2 036.60	7.636 5	0.992 18
T4	906.57	7.133 0	0.998 57

由表 2 可知, 样品中细菌群落的 Coverage 指数均在 0.99 以上, 即样品中 99% 以上的微生物均被检测到, 能较为真实地反映各阶段样品的微生物群落。通过 Chao1 指数和 Shanon 指数的变化可知, 对照组和处理组细菌群落的丰度和多样性整体变化趋势均为先增加后减少, 但对照组腐熟期 C4 的丰度和多样性均较降温期 C3 有所提高。此外, 处理组降温期 T3 的丰度和多样性间变化趋势不同, 丰度较高温期 T2 增加, 多样性却减少。同时, 腐熟期 T4 的丰度较降温期 T3 减小了 55.5%, 但多样性仅减少 6.6%。

细菌群落的 Beta 多样性, 采用 Bray-Curtis 距离算法, 在 95% 置信区间得出结果, 如图 4 所示。随着堆肥过程的进行, 从起始阶段 C1 至腐熟期 T4, 处理组不同时期样品的细菌群落间有明显变化 ($P \leq 0.05$)。对照组在高温期 C2 变化明显 ($P \leq 0.05$), 而降温期 C3 和腐熟期 C4 无明显差异 ($P > 0.05$), 即群

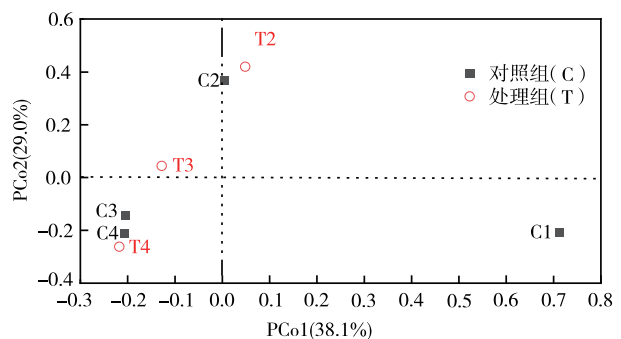


图 4 堆肥过程中细菌群落的 Beta 多样性分析

Fig. 4 Beta analysis of bacterial community during the composting processes

落组成相似。此外,对照组和处理组在高温期、腐熟期的直线距离最近,即 C2 和 T2,C4 和 T4 样本间群落组成差异较小。

2.2.2 细菌群落门水平的影响

细菌群落在门水平的分布如表 3 所示,从起始样 C1 至高温期 C2,对照组中厚壁菌门(Firmicutes)增幅为 7.2%,而高温期 T2 中厚壁菌门(Firmicutes)较高温期 C2 的丰度高出 4.9%;Firmicutes 的丰度变化在降温期更明显,T3 比 C3 提高 32.3%。高温期,C2 中微生物丰度较 T2 高的种群主要是脱球菌-栖热菌门(Deinococcus-Thermus)和拟杆菌门(Bacteroidetes),分别高出 4.7%和 1.6%。而降温期,T3 中仅 Firmicutes 丰度较 C3 高。至腐熟期,T4 中变形菌门(Proteobacteria)和 Bacteroidetes 的丰度分别比 C4 分别高出 23.6%和 0.43%。上述变化表明,炭基微生物菌剂主要在高温期和降温期促进 Firmicutes 的增殖,并在腐熟期促进 Proteobacteria 微生物的生长,使 Proteobacteria 和放线菌门(Actinobacteria)在群落中发挥主导作用。

表 3 细菌门水平群落的组成

Tab. 3 Community composition of bacterial at the phylum level

细菌群落门	增幅/%						
	C1	C2	C3	C4	T2	T3	T4
Firmicutes	44.74	51.92	17.57	18.23	56.82	49.82	14.30
Actinobacteria	5.37	20.27	34.36	47.73	20.78	22.92	35.90
Proteobacteria	33.89	12.87	10.42	12.03	13.82	5.94	35.65
Chloroflexi	0.71	2.35	18.36	8.74	3.45	9.12	4.02
Deinococcus-Thermus	0.19	7.73	16.88	8.63	3.04	1.14	1.90
Bacteroidetes	14.08	2.15	1.23	3.02	0.51	0.35	3.45
Other	1.03	2.71	1.16	1.63	1.57	10.71	4.78

2.2.3 细菌群落门水平与理化指标的 Pearson 相关性分析

细菌群落门水平的丰度与温度、含水率、pH 值、EC、 E_4/E_6 和 GI 的 Pearson 相关性如图 5 所示。由图 5 b)可知,处理组门水平细菌群落(厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、Chloroflexi、栖热球菌门和拟杆菌门)与理化指标(温度、含水率、pH 值、EC、 E_4/E_6 和 GI)间 36 个相关性中,相关性增加的占比为 55.6%,减少的为 22.2%,相关性发生改变的是 13.9%,8.3%的相关性数值未变化。加入炭基微生物菌剂后,Firmicutes 与 EC、 E_4/E_6 和 GI 间的相关性明显增加。

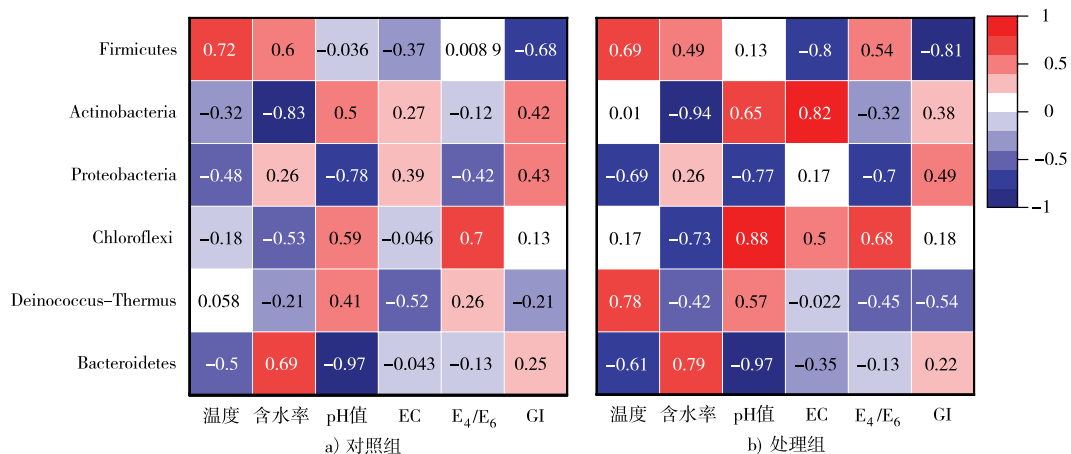


图 5 对照组和处理组理化指标与细菌群落门水平的 pearson 相关性分析

Fig. 5 Pearson correlation analysis between physicochemical indexes of control group and treatment group and bacterial community level

研究堆肥过程中细菌群落和丰度的变化,有助于更加全面地分析腐熟过程。检测不同时期样品的细菌群落,通过 Alpha 和 Beta 多样性分析,可把 7 个样品分为 4 类,分别为 C2 和 T2;C3,C4 和 T4;C1 和 T3 各为一类。添加炭基微生物菌剂后,高温期与对照组的差别不大,但降温期有明显差异($P \leq 0.05$),腐熟期则无明显差异($P > 0.05$),Alpha 和 Beta 多样性的变化趋势与张晶等^[26]和黄雅楠等^[27]的研究结果相一致。对细菌群落门水平的分析表明,Firmicutes 在高温期 T2 比 C2 的丰度提高 4.9%,降温期 T3 较 C3 的丰度

高出 32.3%。Firmicutes 在堆肥过程中对纤维素降解和转化起主要作用^[28],经过高温期,一些不耐热的微生物处于死亡或休眠状态^[29],而生物炭比表面积大、孔隙率高等特点,使炭基微生物菌剂的定殖效率提高,从而加速了杂草中纤维素的降解和转化。此外,炭基微生物菌剂的加入,影响了堆肥中微生物群落的分布与演替,如 *Deinococcus-Thermus*、*Bacteroidetes* 和 *Proteobacteria* 等。炭基微生物菌剂可促使细菌门水平与理化指标间 36 个相关性发生较大改变,相关性数值增加的占比为 55.6%。添加炭基微生物菌剂后,可增加细菌群落的多样性,促使各种微生物对物料的分解代谢,进而促进堆肥腐熟的进程。

3 结 语

添加炭基微生物菌剂,可使牛粪好氧堆肥快速升温,提高最高温度,延长高温期,且 E_4/E_6 、EC 与累计温度、含水率、GI、pH 值等理化指标的相关性显著改变($P \leq 0.05$),Pearson 相关性分析理化指标间 15 个相关性时,相关性增加的占比为 66.7%。炭基微生物菌剂所属 Firmicutes 丰度在高温期和降温期均有所提高,尤其在降温期可提高 32.3%,同时对其他群落的丰度和演替也有一定影响,使理化指标与细菌门水平间相关性系数增加到 55.6%。研究表明,在牛粪好氧堆肥时,加入炭基微生物菌剂可明显提高理化指标间相关性的数值,加速微生物群落的演替,增加细菌群落的多样性,对物料进行分解,促进堆肥腐熟进程,提高堆肥产品质量。

鉴于炭基微生物菌剂可迅速提高堆体温度、延长高温期、加速微生物群落演替等优点,今后还应对炭基微生物菌剂在堆肥中是否可减少 NH_3 、 N_2O 、 CO_2 等气体的排放进行深入的研究,更加全面地揭示炭基微生物菌剂在堆肥中的作用效果。

参考文献/References:

- [1] PARTANEN P, HULTMAN J, PAULIN L, et al. Bacterial diversity at different stages of the composting process[J]. *BMC Microbiology*, 2010, 10. DOI: 10.1186/1471-2180-10-94.
- [2] LIU Xiaoming, HOU Yi, LI Zhen, et al. Hyperthermophilic composting of sewage sludge accelerates humic acid formation: Elemental and spectroscopic evidence[J]. *Waste Management*, 2020, 103: 342-351.
- [3] YU Zhen, TANG Jia, LIAO Hanpeng, et al. The distinctive microbial community improves composting efficiency in a full-scale hyperthermophilic composting plant[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 265: 146-154.
- [4] WAN Leibing, WANG Xitao, CONG Cong, et al. Effect of inoculating microorganisms in chicken manure composting with maize straw [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 301. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122730.
- [5] 李荣华, 涂志能, AMJAD A, 等. 生物炭复合菌剂促进堆肥腐熟及氮磷保留[J]. *中国环境科学*, 2020, 40(8): 3449-3457.
LI R H, TU Z N, AMJAD A, et al. Biochar carried microbial solution promotes compost maturity and nitrogen, phosphorus conservation [J]. *China Environmental Science*, 2020, 40(8): 3449-3457.
- [6] 陶思远. 炭基 *Bacillus subtilis* SL-13 菌剂的制备及对辣椒促生与土壤改良特性研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2018.
TAO Siyuan. Preparation of Biochar-Based *Bacillus Subtilis* SL-13 Formulations and Its Effect on Pepper Promoting Growth and Soil Improvement[D]. Shihezi: Shihezi University, 2018.
- [7] ZHU Xiaomin, CHEN Baoliang, ZHU Lizhong, et al. Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 227: 98-115.
- [8] QUILLIAM R S, GLANVILLE H C, WADE S C, et al. Life in the 'charosphere'-Does biochar in agricultural soil provide a significant habitat for microorganisms? [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 65: 287-293.
- [9] 何远灵, 邢泽炳, 吴晓东. 生物炭对鸡粪好氧堆肥基质降解的影响与氨气排放研究[J]. *农业科学与技术(英文版)*, 2018, 19(3): 58-66.
HE Yuanling, XING Zebing, WU Xiaodong. Effects of biochar on substrate degradation and ammonia emission during aerobic composting of chicken manure[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2018, 19(3): 58-66.
- [10] XIAO R, AWASTHI M K, LI R H, et al. Recent developments in biochar utilization as an additive in organic solid waste composting: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 246: 203-213.
- [11] ZHANG Jining, LYU F, SHAO Liming, et al. The use of biochar-amended composting to improve the humification and degradation of sewage sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 168: 252-258.
- [12] 孟庆欣. 牛粪玉米秸秆堆肥中微生物群落演替及互作关系研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020.
MENG Qingxin. Succession and Interactions of Microbial Communities in Cow Manure and Corn Stalk Composting[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2020.
- [13] MOHARANA P C, BISWAS D R. Assessment of maturity indices of rock phosphate enriched composts using variable crop residues[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 222: 1-13.

- [14] NY/T 525—2021, 有机肥料[S].
- [15] 李舒清, 张镜丹, 纪程, 等. 接种复合菌剂对牛粪好氧堆肥进程及温室气体(CH₄和N₂O)排放的影响[J]. 南京农业大学学报, 2017, 40(6): 1041-1050.
LI Shuqing, ZHANG Jingdan, JI Cheng, et al. Effects of inoculation of complex microbial inoculants on the process and greenhouse gas (CH₄ and N₂O) emissions of cattle manure aerobic composting[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2017, 40(6): 1041-1050.
- [16] 张嘉超. 基于分子生物学的堆肥功能微生物种群与体系基质特性关系研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2013.
ZHANG Jiachao. Researches on the Relationships Between Functional Microbial Communities with Sample Properties in Compost Based on Molecular Biological Techniques[D]. Changsha: Hunan University, 2013.
- [17] 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.
JIANG Xinyou, WANG Xiaodong, ZHOU Jiangming, et al. Effects of initial pH values on maturity and nitrogen loss during co-composting of pig manure and edible fungus residue[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2016, 28(9): 1595-1602.
- [18] ZHANG Jining, CHEN Guifa, SUN Huifeng, et al. Straw biochar hastens organic matter degradation and produces nutrient-rich compost [J]. Bioresource Technology, 2016, 200: 876-883.
- [19] ZHANG Lu, SUN Xiangyang. Influence of bulking agents on physical, chemical, and microbiological properties during the two-stage composting of green waste[J]. Waste Management, 2016, 48: 115-126.
- [20] 张亚宁. 堆肥腐熟度快速测定指标和方法的建立[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
ZHANG Yaning. Studies on the Foundation of Simple Indexes and Mensuration of Compost Maturity[D]. Beijing: China Agricultural University, 2004.
- [21] BERNAL M P, ALBURQUERQUE J A, MORAL R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment: A review[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(22): 5444-5453.
- [22] 魏彦红, 郁继华, 颀建明, 等. 不同添加剂对牛粪高温堆肥的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2012, 47(3): 52-56.
WEI Yanhong, YU Jihua, XIE Jianming, et al. Effects of different additives on high temperature composting of cow dung[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2012, 47(3): 52-56.
- [23] GABHANE J, WILLIAM S P M P, BIDYADHAR R, et al. Additives aided composting of green waste; Effects on organic matter degradation, compost maturity, and quality of the finished compost[J]. Bioresource Technology, 2012, 114: 382-388.
- [24] LI Mingxing, HE Xiaosong, TANG Jian, et al. Influence of moisture content on chicken manure stabilization during microbial agent-enhanced composting[J]. Chemosphere, 2021, 264(Pt 2). DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.128549.
- [25] AWASTHI M K, PANDEY A K, KHAN J, et al. Evaluation of thermophilic fungal consortium for organic municipal solid waste composting[J]. Bioresource Technology, 2014, 168: 214-221.
- [26] 张晶, 孙照勇, 谭力, 等. 畜禽粪便堆肥化过程的理化特征和微生物群落多样性解析[C]//2014中国环境科学学会学术年会(第十二章). 成都: 中国环境科学学会, 2014: 336-339.
- [27] 黄雅楠, 王晓慧, 曹琦, 等. 高通量测序技术分析猪粪堆肥过程中微生物群落结构变化[J]. 微生物学杂志, 2018, 38(5): 21-26.
HUANG Yanan, WANG Xiaohui, CAO Qi, et al. Analysis of microbial community changes in pig excrement during compost process based on high-throughput sequencing technology[J]. Journal of Microbiology, 2018, 38(5): 21-26.
- [28] YANG Shu, SONG Liyan. Succession of bacterial community structure and metabolic function during solid waste decomposition[J]. Bioresource Technology, 2019, 291. DOI: 10.3969/j.issn.1005-7021.2018.05.004.
- [29] TASHIRO Y, TABATA H, ITAHARA A, et al. Unique hyper-thermal composting process in Kagoshima City forms distinct bacterial community structures[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2016, 122(5): 606-612.