

张晟国, 彭彦, 李茹玉, 等. 堆肥发酵功能菌株的筛选及其在鸡粪好氧堆肥中的应用[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(4): 20-27.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.04.003

堆肥发酵功能菌株的筛选及其在鸡粪好氧堆肥中的应用

张晟国, 彭彦, 李茹玉, 李展鑫, 黄逸豪, 王国磊, 任竹青, 吴健

华中农业大学动物科学技术学院, 武汉 430070

摘要 为开发畜禽粪便好氧堆肥的高效降解转化和除臭固氮菌剂, 进一步提高堆肥效率和品质, 通过菌株产酶和除臭能力分析筛选堆肥发酵功能菌株, 分别研制了2种复合菌剂(复合菌剂I和复合菌剂II), 探究添加复合菌剂对鸡粪好氧堆肥常规理化指标、纤维素酶和脲酶活性、氮损失、堆肥产品质量的影响。结果显示: 与空白对照组和实验室前期研制的复合菌剂III相比, 复合菌剂I因含有有机物质降解能力较高的菌株, 能显著增加堆体纤维酶活性, 后期纤维素酶酶活高达4.937 U/g; 添加复合菌剂I可显著提高堆体温度, 最高温度可达65.8℃, 比对照组高5.8℃; 而复合菌剂II因含有除臭能力较强的菌株, 能显著降低堆体的脲酶活性和氮损失; 添加复合菌剂II提高了堆肥产品的总养分含量, 堆肥产物总养分可达到5.32%, 显著高于对照组(4.52%)。2种复合菌剂均能加快堆肥腐熟, 堆肥第7天时, 种子发芽指数(GI)值分别为75.12%和75.29%, 而对照组GI值仅为47.89%。结果表明, 本研究研制的复合菌剂I和II在鸡粪好氧堆肥应用中有良好的效果, 可使堆肥升温、腐熟程度高, 增加纤维素酶活性, 降低脲酶活性, 减少堆肥产物总养分流失和氮损失率。

关键词 鸡粪; 好氧堆肥; 复合菌剂; 纤维素酶; 脲酶; 除臭; 有机肥生产

中图分类号 S141.4; X713 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)04-0020-08

畜禽粪便是我国最主要的有机固体废弃物来源之一, 目前中国每年畜禽粪污产生量近40亿t, 但资源化利用率不足75%^[1]。畜禽粪便中残留的抗生素、重金属、病原体及其他污染物造成严重的环境污染问题^[2]。好氧堆肥是实现畜禽粪便无害化处理和资源化利用的主要途径, 可将畜禽粪便转化为富含有机氮、有机碳及其他养分的有机肥, 在一定程度上满足植物对氮肥和磷肥的需求并减少化肥的使用^[3]。好氧堆肥作为一个复杂的物理、化学和生物过程, 受到多种生物和非生物因素的影响, 这些因素通过影响堆体的理化性质和微生物的代谢活动, 进而影响堆肥过程中的生化反应、养分和氮素损失及臭味气体排放, 最终影响堆肥效率和品质^[4]。目前, 好氧堆肥仍存在升温缓慢、周期较长、养分和氮素损失严重和臭气挥发等问题^[5], 如何在堆肥中固氮除臭、提高堆肥效率和品质是有机肥生产亟待解决的问题。

特定微生物的接种会强化堆肥过程, 影响堆肥

中的微生物群落, 加速堆料分解并提高堆肥产品的腐殖质含量^[6]。外源添加微生物菌剂能够强化堆肥过程, 改善畜禽粪便传统堆肥过程, 增加初期堆料中有益微生物含量, 增强堆体内微生物代谢作用, 加快堆肥腐熟缩短周期, 降低氨气臭味挥发从而减少氮素损失^[7-8]。有研究表明, 在畜禽粪便堆肥中应用芽胞杆菌属细菌可通过生物同化作用有效降低氨气浓度^[9]。但这些研究多停留在实验室规模, 不同的研究中堆肥原料和过程控制存在较大差异, 接种菌剂的应用效果不一, 这些微生物菌剂也仅对个别堆肥指标有一定的强化作用, 其商业应用效果有限, 仍有必要筛选功效稳定、显著的功能菌株和菌剂产品。

本研究针对好氧堆肥过程周期长、氮损失和氨挥发严重、堆肥产品品质差等问题, 有针对性地研制高效降解转化和除臭固氮菌剂, 并探究其在鸡粪堆肥中的应用效果, 为扩大复合菌剂在堆肥中的应用, 进一步提高有机肥生产效率和品质提供实践依据。

收稿日期: 2022-04-08

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0500204)

张晟国, E-mail: 1144896245@qq.com

通信作者: 吴健, E-mail: wujian@mail.hzau.edu.cn

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究中所用菌株均来自笔者所在课题组前期从不同堆肥和土壤样品中分离的原有保存菌株。其中,饲料类芽胞杆菌(*Paenibacillus pabuli*) 5-1、台中类芽胞杆菌(*Paenibacillus taichungensis*) 6-6和红球菌(*Rhodococcus hoagii*) K4-1在中国典型培养物保藏中心的保藏编号分别为CCTCC NO:M2021574、CCTCC NO:M2021575和CCTCC NO:M2021573。复合菌剂Ⅲ是笔者所在课题组曹蕊前期研制的堆肥菌剂配方(枯草芽胞杆菌BS2:解淀粉芽胞杆菌Ba:地衣芽胞杆菌BL1:酿酒酵母SC=3:1:3:4)(专利号:ZL202010616986.0)。

堆肥原材料鸡粪来自华中农业大学实验鸡场,辅料锯末来自华中农业大学动物医院。

1.2 主要仪器与设备

Vario PYRO cube 元素分析仪,德国Elementar; LH3-CNP 氨氮总磷测定仪,杭州陆程仪器有限公司; 722E 紫外分光光度计,上海光谱仪器有限公司; WT20003 电热恒温培养箱,上海天呈实验仪器制造有限公司; AB204-N 分析天平,瑞士METTLER TOLEDO。

1.3 功能菌株的筛选

将待测菌株分别接种于酪素培养基、淀粉培养基、刚果红羧甲基纤维素钠培养基,观察菌落周围是否有无色透明圈出现,计算出透明圈直径和菌落直径之比,判断菌株产蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶能力。

将各个菌株分别接种到含10% NH_4^+ 培养基中,连续传代3次,对能在含10% NH_4^+ 培养基上生长的菌株进行除臭能力分析。将筛选的菌株分别培养24 h制成菌悬液20 mL,与200 g新鲜鸡粪均匀混合,置于1 000 mL大烧杯中,内置50 mL小烧杯,小烧杯加入20 mL 0.05 mol/L硫酸,进行氨气的吸收,保鲜膜封口大烧杯,每组重复3次。同时,将添加等量蒸馏水不加菌悬液作为空白对照组。整个试验于50℃下进行,采用NaOH中和滴定法隔天测定氨气释放量,并计算氨气释放率。

1.4 复合菌剂的制备

采用打孔法对功能菌株之间的拮抗性进行测定,将菌株分别制备成菌悬液,均匀涂抹至培养基表面,使用打孔器等距离四点打孔及中心打孔,并将孔底部进行火焰封底,吸取其余待测菌株菌悬液50 μL

加入孔中,以空白液体培养基为对照,于37℃培养24 h后观察打孔周围抑菌圈情况并测量其直径。在混合培养基发酵过程中,分别取4株菌 OD_{600} 值为1.0左右的菌液,添加菌悬液量,采用4因素3水平的正交试验确定9种不同组合,最终确定菌株的最佳配伍。发酵过程中活菌数采用平板涂布法计数,并测定其吸光值(OD_{600})。

1.5 复合菌剂接种鸡粪好氧堆肥的应用效果研究

1) 鸡粪好氧堆肥试验。鸡粪因含有较高的氮素养分,是有机肥生产常用的原材料。本研究堆肥试验于2020年12月在华中农业大学试验养鸡场内进行。堆肥试验采用鸡粪为原材料,锯末为堆肥辅料。其中,测定堆肥原材料锯末和鸡粪的初始C/N和含水率,锯末的C/N为125.6,含水率为10.45%;鸡粪的C/N为8.72,含水率为71.69%。调节堆肥C/N比为25:1左右,含水率为50%~60%,最终按鸡粪:锯末=6:1比例充分混合。共设置4个处理组,空白对照组(CK)、复合菌剂Ⅰ组(ABⅠ)、复合菌剂Ⅱ组(ABⅡ)、复合菌剂Ⅲ组(ABⅢ)。本研究的复合菌剂Ⅰ和Ⅱ是在复合菌剂Ⅲ的基础上进行改进。在堆肥起始时将复合菌剂按堆体体积的1%比例进行喷洒添加,混匀。

堆肥箱连接通风系统进行鼓风,整个堆肥试验在环境温度17~20℃的温室小棚内进行。堆肥试验装置为容积60 L、厚度30 mm的EPS泡沫箱(高280 mm、长540 mm、宽400 mm)。泡沫箱底部铺满3 cm左右的锯末作为通风缓冲层,侧面开1个小孔便于测定温度,定时通风,保证均匀的通风量。在为期14 d的鸡粪好氧堆肥过程中,各试验组的温度均经历了升温期、高温期、降温期和腐熟期,分别于堆肥第1天、第4天、第7天和第14天采集样品。采用5点取样法用无菌小铲采集堆体样品,混合均匀,置于样品袋中,分别于4℃和-20℃冰箱保存。

2) 堆肥常规理化性质的测定。堆肥理化指标的测定方法参照农业行业标准NY/T 525—2012《有机肥料》进行,分别测定堆肥过程中温度、含水率、pH、种子发芽指数(GI)和有机质含量的变化。称取新鲜堆肥样品5~10 g放入坩埚内,于105℃的烘箱中烘干后粉碎过筛,精确称量4~5 mg烘干样品,研磨使其粒径小于0.15 mm,用锡箔纸包被,使用元素分析仪测量样品中总C、N含量。铵态氮采用氯化钾浸提-靛酚蓝比色法测定、硝态氮测定采用双波长紫外-分光光度法。纤维素酶活性采用3,5-二硝基水杨酸

(DNS)法测定,脲酶活性采用比色法测定。

1.6 数据处理与分析

数据均采用“平均值±标准差”表示。利用SPSS 20.0对数据进行单因素方差(One-way ANOVA)分析及 t 检验,显著性水平为 $\alpha=0.05$;使用Origin、Graphpad Prism作图。

2 结果与分析

2.1 功能菌株的筛选

将实验室前期从不同堆肥和土壤样品分离的22株菌,进行菌株降解产酶活力和除 NH_3 能力分析,结果发现,饲料类芽胞杆菌5-1和台中类芽胞杆菌6-6产淀粉酶和纤维素酶活力较高,解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) 6-1和枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*) 8-3产蛋白酶和纤维素酶活力较高(表1),将其作为堆肥高效降解复合菌剂I的复配菌株。

将各菌株制备成菌悬液后分别与烧杯中的鸡粪混合均匀,测定其 NH_3 去除能力。结果发现,饲料类芽胞杆菌5-1、台中类芽胞杆菌6-6和红球菌K4-1对鸡粪释放 NH_3 的去除能力较高,分别达到15.76%、10.87%和7.07%,将这些菌株用于堆肥固氮除臭复合菌剂II的研制。

表1 功能菌株产淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶的透明圈直径和菌落直径之比

Table 1 The ratio of transparent circle diameter to colony diameter of amylase, protease and cellulase produced by functional strains

菌株 Strains	淀粉酶 Amylase enzyme	蛋白酶 Protease	纤维素酶 Cellulase enzyme
饲料类芽胞杆菌5-1 <i>Paenibacillus pabuli</i> 5-1	5.58	0	10.69
解淀粉芽胞杆菌6-1 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 6-1	2.64	8.67	9.44
台中类芽胞杆菌6-6 <i>Paenibacillus taichungensis</i> 6-6	6.82	0	9.86
枯草芽胞杆菌8-3 <i>Bacillus subtilis</i> 8-3	2.25	8.77	6.77

2.2 复合菌剂的研制

通过打孔法进行菌株间的拮抗试验,结果显示,选取的功能菌株间不存在拮抗作用。复合菌剂I由降解酶活较高的饲料类芽胞杆菌5-1、解淀粉芽胞杆菌6-1、台中类芽胞杆菌6-6和枯草芽胞杆菌8-3组成;复合菌剂II由去除 NH_3 能力较好的饲料类芽胞

杆菌5-1、台中类芽胞杆菌6-6、红球菌K4-1、酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) SC组成(SC为本课题组曹蕊筛选的能利用不同氮源、有除臭效果的酿酒酵母菌株)。通过复配正交试验,最终确定复合菌剂I最优组成为5-1:6-1:6-6:8-3=2:3:2:3,复合菌剂II最优组成为5-1:6-6:K4-1:SC=2:2:2:1。

2.3 复合菌剂接种鸡粪好氧堆肥的应用效果

整个堆肥过程主要分为4个阶段:升温期、高温期、降温期和腐熟期。温度是从表观上直接呈现堆肥进程的指标。如图1A所示,在为期14d鸡粪好氧堆肥中,在第1天时各组温度均高于 55°C ,进入高温期阶段,第2天时添加复合菌剂组温度均高于空白对照组(CK组)。添加复合菌剂组明显提高了堆体温度,复合菌剂I组最高温度可达 65.8°C ,比对照组高 5.8°C 。高温期持续到第3天后进入降温期,在第8天后各组温度趋于稳定,接近环境温度。

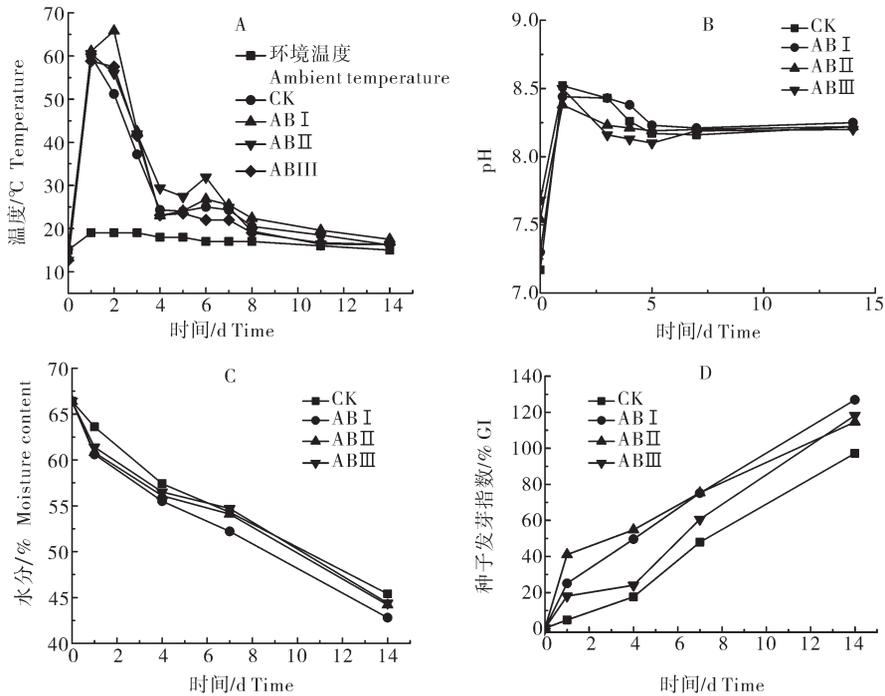
pH可以反映堆肥过程中微生物生长酸碱环境,适宜的pH有利于微生物生长,降低pH可抑制氨气挥发。如图1B所示,pH呈现先急剧上升,后逐渐略微降低趋势,整体变化范围在pH 7.0~8.5,各组pH差异不显著($P>0.05$)。但在堆肥中期复合菌剂II组和复合菌剂III组pH值略微低于空白对照组,低pH值有利于抑制氨挥发。堆肥初期,含氮有机物在微生物的作用下氨化导致pH上升,后期硝化作用促进铵态氮向硝态氮转变,使pH略微下降最终趋于稳定。

适宜的含水率有利于微生物生长,如图1C所示,堆肥初期含水率为66.4%,各组含水率均逐渐降低,呈下降趋势。堆肥结束时,CK组、复合菌剂I组、复合菌剂II和复合菌剂III组含水率分别为45.4%、42.8%、44.2%和44.4%,添加复合菌剂组含水率均比空白对照组低,尤其是复合菌剂I组降低较为明显,且达到NY/T 3442-2019《有机肥料》中堆肥产物水分含量不超过45.0%的要求。

各试验组白菜种子发芽情况如图1D所示。种子发芽指数(GI)是判断堆肥腐熟度的生物学指标,能直观反映堆肥产品腐熟程度。由图1D可见,堆肥样品对植物毒性呈逐渐降低趋势,添加复合菌剂组从第4天开始根长变化明显,CK组从第7天开始根长变化明显,各试验组GI值呈上升趋势。与对照组相比,添加复合菌剂I、复合菌剂II和复合菌剂III均可改善GI值,在堆肥第7天时,添加复合菌剂I(GI值为75.12%)和复合菌剂II组(GI值为75.29%)均符

合NY/T 3442—2019《有机肥料》堆肥产物GI值 \geq 70.00%的要求,而CK组未达到腐熟(GI值为47.89%);堆肥第14天时,各试验组GI值均大于

85.00%,达到完全腐熟。结果表明,接种微生物菌剂可以降低堆肥对植物毒性,加速堆肥腐熟进程,改善堆肥产品品质。



CK:对照组 The control group; AB I :复合菌剂 I 组 Compound microbial inoculant I group; AB II :复合菌剂 II 组 Compound microbial inoculant II group; AB III :复合菌剂 III 组 Compound microbial inoculant III group. 下同 The same as below.

图1 复合菌剂接种鸡粪堆肥过程中温度(A)、pH(B)、含水率(C)和种子发芽指数(D)的变化

Fig. 1 Changes of physicochemical indexes including temperature (A), pH (B), moisture (C) and seed germination index (D) during composting of chicken manure inoculated with compound microbial inoculants

水溶性铵态氮和硝态氮的变化是粪便堆肥中氮素变化的重要指标。如图2A、B所示,各试验组中铵态氮含量总体呈现先上升后下降的趋势,而硝态氮含量整体呈现上升趋势,这是由于含氮有机物氨化后生成大量铵态氮,进而一部分铵态氮在高温环境下生成氨挥发,另一部分铵态氮转化为硝态氮。堆肥结束时,CK组、复合菌剂 I 组、复合菌剂 II 组相比于对照组和前期研制的复合菌剂 III 组,本研究研制的2种复合菌剂均能显著提高堆肥硝态氮含量。

总氮含量变化可判断堆肥过程中氮素损失程度。堆体温度快速升高导致氨挥发,可造成氮损失。在堆肥结束时,比较CK组、复合菌剂 I 组、复合菌剂 II 组、复合菌剂 III 组的氮损失。由图2C可见,复合菌剂 II 组的氮损失率最低,而复合菌剂 I 组的损失率高于CK组。

高纤维素酶活性有利于堆体中纤维素类物质分解。如图3A所示,各组整体纤维素酶活性呈现先升高后降低的趋势,但复合菌剂 I 组在后期纤维素酶

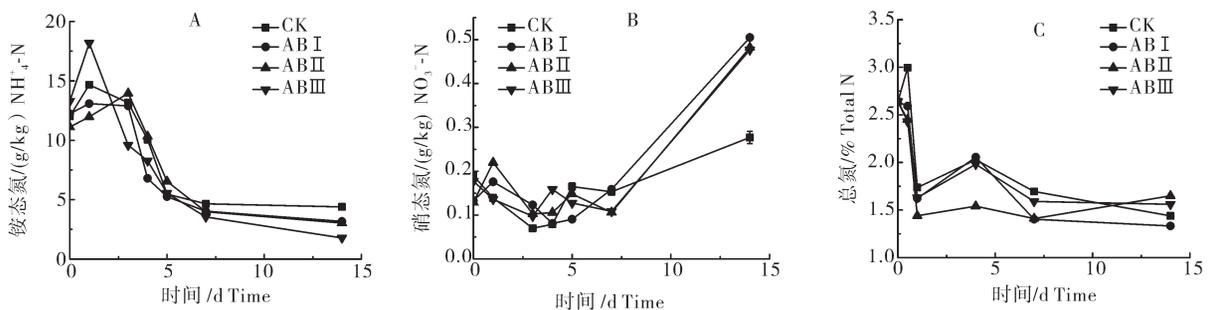


图2 堆肥过程中铵态氮(A)、硝态氮(B)和总氮(C)含量的变化

Fig. 2 Changes of ammonium nitrogen (A), nitrate nitrogen (B) and total nitrogen (C) content during composting

活性显著升高,高达4.937 U/g。复合菌剂Ⅱ、复合菌剂Ⅲ组在堆肥前期纤维素酶活性与空白组差异不显著($P>0.05$),堆肥后期相对空白组分别提高了34.76%和27.41%。高脲酶活性能加快堆体中氨的挥发,反之可抑制氨的挥发。堆体脲酶活性变化见图3B,高温期复合菌剂Ⅰ组的脲酶活性相较于CK

组降低了4.258 mg (NH₃-N)/(g·24 h),显著低于CK组;复合菌剂Ⅱ组在堆肥过程中脲酶活性呈降低趋势,低至3.554 mg (NH₃-N)/(g·24 h),极显著低于空白组($P<0.001$),低脲酶活性更有利于抑制氨的挥发。复合菌剂Ⅲ在堆肥第1天时脲酶活性相对于空白组高31.46%,第14天时酶活性比空白组略低。

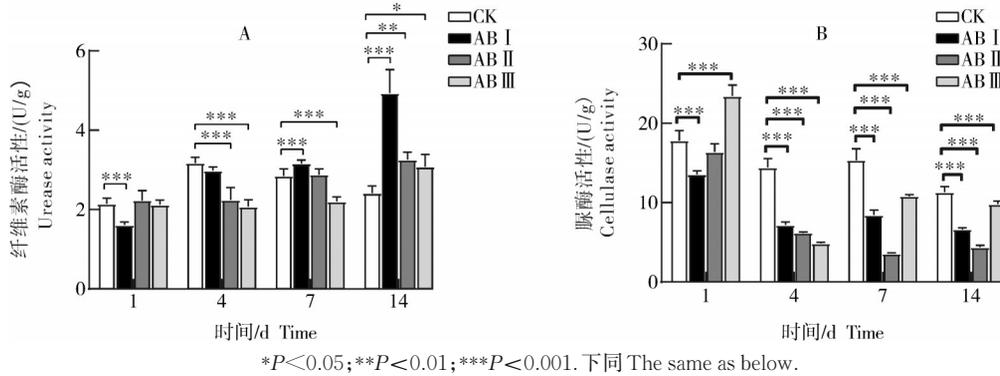


图3 添加复合菌剂鸡粪堆肥过程中纤维素酶(A)和脲酶活性(B)变化

Fig. 3 Changes of cellulase (A) and urease (B) activity during chicken manure composting with compound microbial inoculants

如表2所示,堆肥结束时第14天接种菌剂组有机质含量和总养分均显著高于CK组。在堆肥起始时堆体C/N为25,堆肥进行到第14天时,CK组、复合菌剂Ⅰ组、复合菌剂Ⅱ组、复合菌剂Ⅲ组C/N均小于20,达到堆肥腐熟C/N的要求。通过测定TN、P₂O₅、

K₂O含量,计算得到堆肥产品总养分含量,各组均大于4.00%,符合NY/T 525—2012《有机肥料》行业标准。复合菌剂Ⅱ组堆肥产物总养分显著高于CK组,达到5.32%,这说明接种微生物菌剂可一定程度上减少堆体中总养分流失。

表2 堆肥产物理化性质

Table 2 Physical and chemical properties of compost products

理化性质 Physi-chemical properties	CK	复合菌剂Ⅰ Compound microbial inoculant I	复合菌剂Ⅱ Compound microbial inoculant II	复合菌剂Ⅲ Compound microbial inoculant III
有机质含量/% Organic content	82.97±0.33	84.27±0.57	86.54±0.32***	89.75±0.16***
C/N	16.52±0.31	17.30±0.30*	14.94±0.93***	16.56±0.19
K ₂ O/%	0.85±0.02	0.87±0.01	0.90±0.02*	0.95±0.02***
P ₂ O ₅ /%	2.23±0.06	2.76±0.13***	2.77±0.14***	2.30±0.06
TN/%	1.44±0.01	1.33±0.02***	1.65±0.01***	1.56±0.02***
总养分/% Total nutrient (TN+P ₂ O ₅ +K ₂ O)	4.52	4.96	5.32	4.81

3 讨论

3.1 堆肥功能微生物的筛选

有研究表明,芽胞杆菌属细菌可分泌纤维素酶来分解堆肥混合物中的纤维素和木质素^[10],而枯草芽胞杆菌、解淀粉芽胞杆菌和地衣芽胞杆菌(*Bacillus licheniformis*)还具有固氮能力^[11],也有研究利用

类芽胞杆菌(*Paenibacillus*)发酵产生的纤维素酶降解纤维素、木质纤维素^[12]。本试验所用菌株是前期从堆肥和土壤原始生境样品中分离的菌株,围绕堆肥高效降解和固氮除臭2个难题,通过菌株的产酶活力和除臭能力测定,筛选功能菌株,发现芽胞杆菌属细菌6-1和8-3产蛋白酶和纤维素酶酶活能力较高,2株类芽胞杆菌5-1和6-6产淀粉酶酶活、纤维素酶酶

活和除臭能力较高,并根据菌株的功能分别复配了有高降解能力的复合菌剂 I 和有潜在固氮除臭功能的复合菌剂 II。

鸡粪由于铵态氮含量高导致氨挥发产生异味,如果将氨氧化为亚硝酸盐、硝酸盐能有效降低氨的挥发从而减少对环境的污染。本研究中的饲料类芽胞杆菌 5-1、台中类芽胞杆菌 6-6 和红球菌 K4-1 降低了鸡粪试验组中的 NH_3 浓度并且减少了 NH_4^+-N 的含量。Bai 等^[13]发现含亚硝酸盐还原酶(*Nirs*)基因和氨单加氧酶(*amoA*)基因的红球菌可以通过将 NH_4^+-N 转化为亚硝酸盐和硝酸盐来减少 NH_4^+-N 的含量。而在生物反应器中检测到与红球菌具有高度相似性的硝化细菌^[14],这也表明红球菌可以进行硝化反应促进铵态氮转化为硝酸盐,从而减少铵态氮含量。

3.2 添加复合菌剂对鸡粪好氧堆肥的强化作用

在好氧堆肥中接种微生物菌剂是加快畜禽粪便无害化和腐熟的方法之一。本研究中添加复合菌剂能显著提高堆肥温度,这可能是因为添加微生物菌剂促进了有机物的降解,使得堆体温度快速上升,加快堆肥腐熟进程。尤其是复合菌剂 I 能提高堆体温度 $5.8\text{ }^\circ\text{C}$,可能是复合菌剂 I 是由产酶活力高的菌株组成,显著加快了有机物的降解。也有研究表明,添加复合菌剂促进堆体物质分解,释放更多热量,当高温持续 3 d 以上可以有效消除鸡粪堆体中的病原微生物和杂草,达到无害化处理标准^[15]。

堆肥腐熟度影响堆肥质量,种子发芽指数是目前广泛应用的判断堆肥腐熟度的重要方法^[16]。在本研究中,复合菌剂 I、复合菌剂 II 均显著提高了种子发芽指数,堆肥第 7 天,相对于 CK 组分别提高了 27.23%、27.40%,堆肥产物种子发芽指数 GI 值 $\geq 70.00\%$,符合国家农业行业标准 NY/T 3442—2019;但 CK 组仅为 47.89%,未达到基本腐熟要求,这充分表明了鸡粪堆肥中接种复合菌剂 I、II 可以促进鸡粪堆体腐熟,降低对植物生长毒性作用。有研究表明 C/N 小于 20 时堆肥腐熟,腐熟度与 C/N 之间呈现显著负相关^[17]。在本研究中,堆肥结束时,各组 C/N 均小于 20,达到腐熟 C/N 的要求。

本研究发现,复合菌剂 I 因含有产淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶能力较高的菌株,能有效促进堆肥中有机物质的降解,显著增加堆体纤维酶活性、提高堆体温度、加快堆肥腐熟,但也因堆肥温度的提高,使得氨气挥发更为严重,从而有较多的氮损失。而复

合菌剂 II 因含有除氨能力较高的菌株,能显著降低堆体的脲酶活性和氮损失,从而使堆肥产品具有最高的总养分含量。添加复合菌剂可以调控堆肥过程中的氮代谢,减少氮素物质转化为氨,或吸附堆体内铵态氮,或促进铵态氮转化为硝态氮,或通过生物转化将氮固定储存,从而减少氨的产生。Guo 等^[18]发现添加巨大芽孢杆菌能够促进堆肥中氨氧化过程,降低氨氮的排放。Mao 等^[19]用实验室规模的反应器进行堆肥发现,添加菌粉改善了堆肥中的氮储存和微生物群落。微生物产生的纤维素酶在堆肥纤维素生物降解过程中起主要作用,纤维素的降解程度可以使用纤维素酶活性来表明^[20]。接种外源微生物可以加速堆肥过程中纤维素的降解,外源微生物的添加一方面改变了微生物群落^[21];另一方面促进了酶活性的提高^[22]。鸡粪中的尿素可被脲酶分解为氨和二氧化碳,脲酶对于粪便堆肥过程中异味的产生起关键作用。在本研究中,堆肥前期脲酶活性高,随后脲酶活性逐渐降低,与其他研究结果相似^[23]。复合菌剂 II 组可降低堆肥过程中脲酶活性和氮损失率,表明了低脲酶活性可以抑制氨的挥发,从而降低堆肥过程中的氮损失。脲酶活性下降,一方面可能是添加的复合菌剂具有抑制脲酶活性的特性,另一方面可能是复合菌剂通过促进硝化作用,减少高浓度的铵态氮抑制脲酶生物反应^[24]。复合菌剂 II 堆肥产物总养分可达到 5.32%,显著高于其他组,这也表明了复合菌剂 II 可在一定程度上减少堆体中总养分流失,这可能与其降低了氮素损失有关。

参考文献 References

- [1] GONG B, ZHONG X, CHEN X, et al. Manipulation of composting oxygen supply to facilitate dissolved organic matter (DOM) accumulation which can enhance maize growth[J/OL]. Chemosphere, 2021, 273: 129729 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129729>.
- [2] ALEGBELEYE O O, SANT'ANA A S. Manure-borne pathogens as an important source of water contamination: an update on the dynamics of pathogen survival/transport as well as practical risk mitigation strategies[J/OL]. International journal of hygiene and environmental health, 2020, 227: 113524 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113524>.
- [3] KIM J K, LEE D J, RAVINDRAN B, et al. Evaluation of integrated ammonia recovery technology and nutrient status with an in-vessel composting process for swine manure[J]. Bioresource technology, 2017, 245: 365-371.
- [4] 赵彬涵, 孙宪昀, 黄俊, 等. 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 B H,

- SUN X Y, HUANG J, et al. 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 with English abstract).
- [5] LI Y, GU J, ZHANG S Q, et al. Effects of adding compound microbial inoculum on microbial community diversity and enzymatic activity during co-composting [J]. *Environmental engineering science*, 2018, 35(4): 270-278.
- [6] DUAN M L, ZHANG Y H, ZHOU B B, et al. Effects of *Bacillus subtilis* on carbon components and microbial functional metabolism during cow manure-straw composting [J/OL]. *Bioresource technology*, 2020, 303: 122868 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122868>.
- [7] 周东兴, 王广栋, 邹欣慧, 等. 腐熟堆肥中纤维素降解菌筛选鉴定及酶学特性研究 [J]. *东北农业大学学报*, 2018, 49(5): 60-68. ZHOU D X, WANG G D, WU X H, et al. Compost isolation and enzymatic characteristics of cellulose-decomposing bacteria [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2018, 49(5): 60-68 (in Chinese with English abstract).
- [8] PÉREZ R, TAPIA Y, ANTILÉN M, et al. Interactive effect of compost application and inoculation with the fungus *Claroideoglomus claroideum* in *Oenothera picensis* plants growing in mine tailings [J/OL]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2021, 208: 111495 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111495>.
- [9] KUMAR A, KUMAR A, PRATUSH A. Molecular diversity and functional variability of environmental isolates of *Bacillus* species [J/OL]. *Springer plus*, 2014, 3: 312 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-312>.
- [10] YIN Y N, GU J, WANG X J, et al. Effects of rhamnolipid and Tween-80 on cellulase activities and metabolic functions of the bacterial community during chicken manure composting [J/OL]. *Bioresource technology*, 2019, 288: 121507 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121507>.
- [11] LIU X M, LI Q, LI Y B, et al. *Paenibacillus* strains with nitrogen fixation and multiple beneficial properties for promoting plant growth [J/OL]. *Peer J*, 2019, 7: e7445 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.7717/peerj.7445>.
- [12] KO C H, YANG C Y, CHANG F C, et al. Effect of *Paenibacillus* cellulase pretreatment for fiber surface [J/OL]. *Journal of environmental management*, 2019, 241: 1331 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.1331>.
- [13] BAI F L, TIAN H, MA J. Landfill leachate treatment through the combination of genetically engineered bacteria *Rhodococcus erythropolis* expressing *Nirs* and *AMO* and membrane filtration processes [J/OL]. *Environmental pollution*, 2020, 263: 114061 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114061>.
- [14] FRIEDRICH K L, SOUZA A D R, FIA R, et al. Nitrification in pilot-scale bioreactors fed with effluent from a submerged biological aerated filter used in the treatment of dog wastewater [J]. *Environmental technology*, 2021, 42(24): 3852-3862.
- [15] JAIN M S, JAMBHULKAR R, KALAMDHAD A S. Biochar amendment for batch composting of nitrogen rich organic waste: effect on degradation kinetics, composting physics and nutritional properties [J]. *Bioresource technology*, 2018, 253: 204-213.
- [16] LUO Y, LIANG J, ZENG G M, et al. Seed germination test for toxicity evaluation of compost: its roles, problems and prospects [J]. *Waste management*, 2018, 71: 109-114.
- [17] MOHAMED O Z, YASSINE B, HILALI RANIA E, et al. Evaluation of compost quality and bioprotection potential against *Fusarium* wilt of date palm [J]. *Waste management*, 2020, 113: 12-19.
- [18] GUO H, GU J, WANG X, et al. Beneficial effects of bacterial agent/bentonite on nitrogen transformation and microbial community dynamics during aerobic composting of pig manure [J/OL]. *Bioresource technology*, 2020, 298: 122384 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122384>.
- [19] MAO H, LÜ Z Y, SUN H D, et al. Improvement of biochar and bacterial powder addition on gaseous emission and bacterial community in pig manure compost [J]. *Bioresource technology*, 2018, 258: 195-202.
- [20] CHEN X, CHENG W, LI S, et al. The "quality" and "quantity" of microbial species drive the degradation of cellulose during composting [J/OL]. *Bioresource technology*, 2021, 320: 124425 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124425>.
- [21] HU T, WANG X J, ZHEN L S, et al. 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/OL]. *Bioresource technology*, 2019, 291: 121876 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121876>.
- [22] ZHANG H L, WEI J K, WANG Q H, et al. Lignocellulose utilization and bacterial communities of millet straw based mushroom (*Agaricus bisporus*) production [J/OL]. *Scientific reports*, 2019, 9: 1151 [2022-04-08]. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37681-6>.
- [23] JURADO M M, SUÁREZ-ESTRELLA F, VARGAS-GARCÍA M C, et al. Evolution of enzymatic activities and carbon fractions throughout composting of plant waste [J]. *Journal of environmental management*, 2014, 133: 355-364.
- [24] BOHACZ J. Changes in mineral forms of nitrogen and sulfur and enzymatic activities during composting of lignocellulosic waste and chicken feathers [J]. *Environmental science and pollution research international*, 2019, 26(10): 10333-10342.

Screening of functional strains for composting fermentation and its application in aerobic composting of chicken manure

ZHANG Shengguo, PENG Yan, LI Ruyu, LI Zhanxin, HUANG Yihao,
WANG Guolei, REN Zhuqing, WU Jian

College of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract Livestock manure causes serious environmental pollution problems, and aerobic composting can realize the harmless treatment of livestock manure. However, traditional aerobic composting still has problems such as slow temperature rise, long cycle, serious nutrient loss and serious odor volatilization, and the efficiency and quality of composting need to be further improved. The addition of external microbial inoculants can improve the traditional natural composting process of livestock manure. The functional strains for composting fermentation were screened by analyzing the enzyme production and deodorization ability of the strains, and two kinds of compound microbial inoculants were obtained to develop the microbial inoculants with high efficiency of degradation, transformation, deodorization and nitrogen-fixation for aerobic composting of livestock and poultry manure, and to further improve the efficiency and quality of composting. The effects of adding compound microbial inoculants on the conventional physical and chemical indexes, the activity of cellulase and urease, the loss of nitrogen and the product quality of aerobic composting of chicken manure were studied. The results showed that the compound microbial inoculant significantly increased the cellulase activity of the composting due to its higher ability to degrade organic matter, and the activity of cellulase reached 4.937 U/g at the later stage compared with the control and the compound microbial inoculant III. Adding compound microbial inoculant I significantly increased the temperature of the composting, and the maximum temperature reached 65.8 °C, which was 5.8 °C higher than that of the control. The compound microbial inoculant II significantly reduced the activity of urease and the loss of nitrogen of the composting because it contained the bacteria with strong ability of deodorization, and the loss of nitrogen was lower than that of the control. The content of total nutrient and the quality of compost products were improved by adding compound microbial inoculant II, and the total nutrient of compost products was 5.32%, which was higher than that of the control (4.52%). The addition of compound microbial inoculant I and II both accelerated the maturity of compost. On the 7th day of composting, the GI of seed germination index of adding compound microbial inoculant I and II was 75.12% and 75.29%, while the GI of the control was only 47.89%. It is indicated that the compound microbial inoculants developed has a good effect in the application of aerobic composting of chicken manure, which can increase the temperature of composting and the activity of cellulase, reduce the activity of urease and the loss rate of total nutrient and nitrogen of compost products.

Keywords chicken manure; aerobic composting; compound microbial inoculant; cellulase; urease; deodorization; organic fertilizer production

(责任编辑:赵琳琳)