



微生物菌剂对鸡粪堆肥过程中氨气排放和微生物群落的影响

于静, 谷洁, 王小娟, 郭红宏, 王佳, 张凯煜, 代晓霞, 赵文雅

(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 进行鸡粪和秸秆好氧堆肥, 设置不接种菌剂 CK、接种 T_x 菌剂和 T_c 菌剂共 3 个处理, 研究鸡粪堆肥过程中理化参数、NH₃ 排放量和微生物群落的变化。结果表明, T_x 和 T_c 处理加速了堆体升温且延长了高温期。与 CK 相比, T_x 和 T_c 处理 NH₃ 累积排放量分别降低 28.9% 和 34.1%, 全氮质量分数分别增加 24.9% 和 23.7%。T_c 菌剂对促进堆肥腐熟, 除臭保氮有良好效果。高通量测序结果表明, 厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)是堆肥过程中主要的门类水平类群, 接种微生物菌剂改变了微生物群落结构。RDA 结果表明, 温度和 pH 是造成鸡粪堆肥过程中微生物群落结构差异的主要原因。

关键词 微生物菌剂; 堆肥; 氨气; 微生物群落

中图分类号 X713

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2019)11-1861-10

作为畜禽养殖大国, 2016 年中国养殖业产生的畜禽粪便已达 38 亿 t^[1], 对其合理的处置利用已成为亟待解决的问题。好氧堆肥作为农业废弃物无害化处理和资源利用的重要方式, 其本质是微生物对有机物进行矿质化和腐殖化, 形成稳定的腐殖质类物质的过程^[2]。然而, 当前的堆肥过程中存在腐熟周期过长, 处理不彻底等问题^[3], 更为重要的是, 堆制过程中会产生大量臭气, 尤其是 NH₃ 的排放, 这不仅造成堆肥产品中氮素的大量损失, 而且严重污染环境^[4]。

微生物作为有机固体废物分解的关键, 在堆肥过程中至关重要^[5]。接种微生物菌剂对微生物群落结构和活性有调节和促进作用, 从而使堆肥温度有效提高, 进一步提高堆肥腐熟度^[6]。黄颖婕等^[7]将筛选的纤维素高效降解菌应用于牛粪堆肥中, 发现该降解菌能提升堆肥温度, 显著提高纤维素降解率, 从而提升堆肥品质。于洪久等^[8]研究发现接种微生物菌剂可以延长堆肥高温期, 降低该过程 NH₃ 挥发量, 减少 NH₄⁺-N 产生, 从而起到保氮除臭的作用。然而, 王守红等^[9]在牛粪堆肥中添加菌剂, 研究发现铵态氮、全氮和有机氮形式的氮素在降温期和腐熟期损失程度较大。研

究表明将腐熟堆肥应用于土壤可以提高土壤肥力并促进植物生长^[10]。而目前对堆肥中微生物菌剂的研究集中于其对堆肥腐解进程的影响, 对于降低 NH₃ 排放提高堆肥品质的研究较少, 已有的微生物菌剂在除臭保氮上也并未达到优良效果。

也有学者研究了微生物菌剂对堆肥过程微生物群落的影响, 史龙翔等^[11]在果树枝条堆肥中接种了复合菌剂, 通过 Biolog 微平板法测定发现接种复合菌剂主要在高温期发挥作用, 是通过改变微生物对 6 大类碳源的利用。解开治等^[12]研究了由几种菌株复合的菌剂对猪粪堆肥过程中细菌群落的影响, 用 PCR-DGGE 技术分析表明外源菌剂极大影响了各阶段细菌群落结构。目前对微生物菌剂的研究侧重于探究其在堆肥进程中的作用, 对于微生物群落多样性影响的研究方法大多采用传统分子生物学手段。本试验接种了 2 种不同微生物菌剂于鸡粪好氧堆肥中, 测定堆肥参数和 NH₃ 排放量的变化, 利用高通量测序技术分析微生物群落结构, 探究微生物菌剂的接种对堆肥过程中 NH₃ 排放的影响, 揭示影响微生物群落变化的驱动因子, 阐明微生物菌剂影响堆肥进程的生物学机制, 提供了畜禽粪便无害化处理的理论依据。

收稿日期: 2019-05-10 修回日期: 2019-06-26

基金项目: 陕西省科技计划重点项目(2017ZDCXL-SF-03-03); 国家自然科学基金(41671474, 41601531)。

第一作者: 于静, 女, 硕士研究生, 研究方向为农业废弃物无害化处理与资源化利用。E-mail: 893593983@qq.com

通信作者: 谷洁, 男, 研究员, 研究方向为农业废弃物无害化处理与资源化利用。E-mail: gujie205@sina.com

1 材料与amp;方法

1.1 堆肥材料与装置

本试验的堆肥材料为鸡粪,选自陕西杨凌某小型养鸡场,小麦秸秆采自农户小麦地,晾干粉碎均匀至 1~2 cm 长度用于调节堆体的 C/N。堆肥物料的基本性质如表 1。

试验所用 2 种菌剂, Tx 菌剂为西北农林科技大学资源环境学院环境微生物研究团队自行筛选获得的 WSD-5 纤维素降解复合菌系,采用 Mandels 培养基[(NH₄)₂SO₄ 1.4 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.3 g/L, KH₂PO₄ 2.0 g/L, 蛋白胨 2.5 g/L, CaCO₃ 2.0 g/L, FeSO₄ · 7H₂O 5.0 mg/L, MnSO₄ 1.6

mg/L, ZnCl₂ 1.7 mg/L, CoCl 1.7 mg/L; 1% (m/v) 干燥的麦秆作为唯一碳源; pH 7.0] 在 30 °C 下以 150 r/min 的摇床培养 7 d, 使其菌液活菌数达到 10⁸ CFU/mL 用于接种。Tc 菌剂选择了 2 种具有保氮功能的单菌, 购自中国普通微生物菌种保藏管理中心, 分别为松鼠葡萄球菌 (*Staphylococcus sciuri*) 和巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*), CGMCC 菌株编号分别为 1.108 76、1.187 0, 将单菌活化后进行拮抗实验, 然后分别选取生长状况较好的菌群进行扩大培养, 按 1 : 1 的体积比混合使其菌液活菌数达到 10⁸ CFU/mL, 用于接种。

表 1 堆肥物料的基本性质

Table 1 Basic characteristics of compost materials

原材料 Raw material	总有机碳/% Total organic carbon	全氮/% Total nitrogen	含水率/% Water content	C/N
鸡粪 Chicken manure	36.67	3.43	82.34	10.69
小麦秸秆 Wheat straw	42.36	1.09	10.14	38.86

堆肥试验在 3 个工作体积完全相同的 130 L 的密闭不锈钢反应器中进行。该反应器直径为 0.51 m, 高为 0.75 m, 筒壁外包有 8 cm 泡沫塑料和 5 cm 石棉布用于保温。该堆肥反应器设有 3 个孔, 一个在反应器底部用于连接泵进行曝气, 一个位于反应器中间用于堆体温度的测量, 最后一个位于反应器顶部用于空气流出。

1.2 试验设计与方法

试验共设置 3 个处理, 分别为不接种任何菌剂的对照处理 (CK), 接种量为 5% (质量分数) 的 Tx 处理, 以及接种量为 5% (质量分数) 的 Tc 处理。

将新鲜鸡粪与小麦秸秆按比例混合并调节 C/N 比至 25 左右, 再根据试验处理分别接种 Tx 和 Tc 微生物菌剂, 添加适当的去离子水使含水率控制在 60% 左右。在初始阶段将堆料混合均匀, 各堆体质量为 15 kg, 最后装填在密闭的堆肥反应器中, 保持堆肥通风速率为 0.35 L/(h · kg) (干质量)^[13], 试验在堆肥第 3 天翻堆 1 次, 随后每 7 d 翻堆 1 次, 保证物料充分混匀。

1.3 样品采集与分析方法

堆肥试验持续 44 d, 依据堆肥过程中温度的变化, 在堆肥第 0、3、12、17、44 天进行样品采集。采集时在堆体上、中、下部分别进行采集并混合均匀, 每份样品均匀地分为两部分, 一部分保存于 4 °C 冰箱, 用于理化指标的分析, 另一部分样品用

于微生物测序, 先用真空冷冻干燥机 (北京松源, 中国) 冷冻干燥, 再用超离心研磨仪 (Retsch z200, 德国) 粉碎, 在进行微生物试验前保存于一 80 °C 冰箱。

1.3.1 NH₃ 和理化指标的测定 NH₃ 的收集于每日 8:00, 经硼酸吸收后用标准 H₂SO₄ 溶液滴定^[14]。用温度计每日定点测量堆体及其环境温度并求取平均值。pH、含水率、总有机碳、总氮的具体测定方法参考土壤农化分析^[15], 用 pH 计 (Mettler Toledo, 瑞士) 对新鲜样品悬浮液 (固体 : 水 = 1 : 10, m/v) 进行 pH 的测定; 含水率在 105 °C 下烘干 8 h 测定; 总有机碳的测定采用重铬酸钾容量法, 用凯氏定氮法完成对全氮的测定。种子发芽指数 (GI) 参照 Zucconi 等^[16] 方法, 将鲜样按 1 : 10 (m/v) 浸提后, 取 5 mL 于铺有滤纸的直径为 9 cm 的培养皿中, 在其中均匀放置 20 粒颗粒饱满的小白菜种子, 对照为 5 mL 蒸馏水, 各处理重复 3 次, 放到 25 °C 培养箱培养 48 h 后对根长进行测量。种子发芽指数 (GI) 按下式计算: GI = (试验样种子发芽率 × 种子根长) / (对照种子发芽率 × 对照样种子根长) × 100%

1.3.2 16S 高通量测序分析 将 0.1 g 堆肥样品使用 Fast DNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, 美国) 进行 DNA 的提取, 具体详细步骤参考说明书。利用 Nanodrop Spectrophotometer ND-

1000(Thermo Fisher Scientific,美国)检测 DNA 浓度和纯度,在确保样品浓度和纯度合格后,保存于一30 °C 冰箱。

将提取的 DNA 堆肥样品寄送至北京诺禾致源科技股份有限公司,进行 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区高通量测序。通过 UPARSE 将序列在 97% 相似水平下进行聚类,获得可操作分类单元(OTUs)。利用 QIIME 进行抽平、RDP 分类,得到样品 OTUs 详细的注释结果,进行后续分析。

1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 19.0 进行数据统计分析和方差分析(LSD, $P < 0.05$),采用 Microsoft Excel 2016 绘图。利用 CANOCO 4.5 软件进行冗余分析。

2 结果与分析

2.1 各处理堆肥过程中理化参数的变化

2.1.1 温度的变化 温度是堆肥进程的直观反映,如图 1 所示,该过程经历了快速升温、持续高温、降温和腐熟稳定 4 个阶段,各处理在堆肥第 1

天迅速升至 55 °C 以上并维持了一定时间,达到了中国农业废弃物无害化处理标准(GB 7959-87)。具体来看,Tx 和 Tc 处理于第 1 天达到 60 °C 以上,并在 55 °C 以上均维持了 13 d;而 CK 处理升温较慢,于第 3 天开始升至 60 °C 以上,并于 55 °C 以上持续了 11 d。各处理在第 10 天经翻堆后温度又回升至 55 °C 以上,在堆肥 15 d 后,随着易降解有机质的连续减少^[14],各处理温度下降至平稳水平。

2.1.2 堆肥过程中 pH、硝态氮(NO_3^- -N)、铵态氮(NH_4^+ -N)和全氮的变化 试验中各处理 pH 变化趋势基本一致,均表现为先下降后上升然后趋于平稳(图 2-A),在整个堆肥过程中维持在 8.0~9.3 之间。好氧堆肥初期 pH 下降,在第 3 天降至最低,随着堆肥过程进入高温期,各处理的 pH 都增加,CK 处理在高温期 pH 上升最大,由 8.0 上升至 9.2,Tc 处理 pH 由 8.5 升至 9.1。堆肥结束时各处理 pH 维持在 9.1~9.3 之间,弱碱性 pH 与腐熟堆肥的一般标准保持一致^[17]。

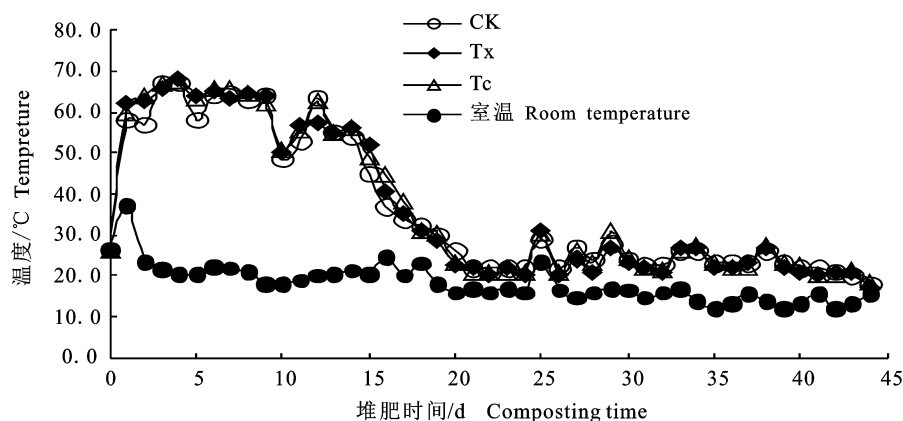


图 1 不同堆肥处理温度的变化

Fig.1 Changes in temperature of different treatments during composting

NO_3^- -N 质量分数在堆肥前期一直处于较低的水平,总体来说处于上升趋势,在堆肥腐熟期达到最高值,CK、Tx 和 Tc 处理分别达 104.39、67.47 和 45.06 mg/kg(图 2-B)。研究表明硝化作用较少在 40 °C 以上发生,大部分发生在降温期和腐熟期^[18],因此, NO_3^- -N 在堆肥降温期大量积累。与 NO_3^- -N 不同, NH_4^+ -N 质量分数在前 3 d 上升(图 2-C),随后一直降低, NH_4^+ -N 质量分数的增加是由于氨化与含氮有机化合物的生物降解和嗜热相(>50 °C)的低硝化作用引起的^[14],而高温时 NH_4^+ -N 质量分数显著降低,可能是被转

化为 NH_3 大量挥发所致。

如图 2-D 所示,各处理全氮质量分数在整个堆肥过程中均逐渐增加。堆肥初期,CK、Tx 和 Tc 处理全氮质量分数分别为 1.46%、1.51% 和 1.35%,各处理间差异不显著($P > 0.05$)。直至堆肥结束,各处理测得的全氮质量分数分别增加到 2.49%、3.11% 和 3.08%,Tx 和 Tc 处理显著高于 CK($P < 0.05$)。

2.1.3 堆肥过程中 C/N 和种子发芽指数(GI)的变化 C/N 可看作一个较为直观的衡量堆肥腐熟的化学指标,CK、Tx、Tc 处理的 C/N 在堆肥过

程中均逐渐下降(图 3-A),分别由 25.49、22.96、27.97 下降至 12.14、10.05、11.39。这是微生物利用消耗有机碳、全氮质量分数相对增加的结果。研究表明堆肥结束时的 C/N 为 10~14,可表明堆肥已腐熟完全^[19]。有学者采用 $T = (\text{终点 C/N}) / (\text{初始 C/N})$ 来衡量堆肥腐熟度,当 $T < 0.6$ 时可认为其达到腐熟标准^[20]。在本试验的 3 个处理中,T 值分别为 0.48、0.44、0.41。

如图 3-B 所示,各处理的种子发芽指数(GI)在整个堆肥进程中均为增长趋势。在堆肥初期,GI 较低,为 27.8%~31.9%,堆肥结束时,各处理的 GI 分别达到 93.1%、117.0%、146.3%。GI 作为生物指标常用作评价堆肥腐熟度,当 $GI > 60\%$ 时,可认为其不具有植物毒性,即堆肥已达到腐熟^[21],说明经过 44 d 堆肥,堆肥产品均达到无害化程度。

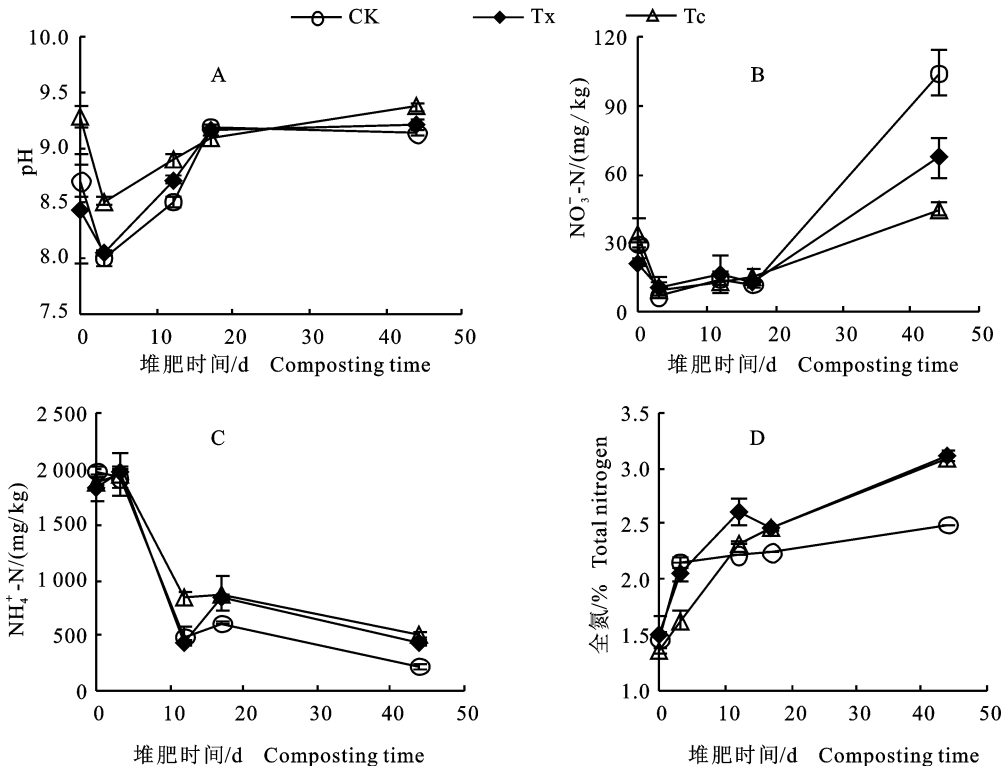


图 2 不同堆肥处理中 pH、NO₃⁻-N、NH₄⁺-N 和全氮的变化

Fig.2 Changes in pH, NO₃⁻ N, NH₄⁺ -N and total nitrogen during the composting of different treatments

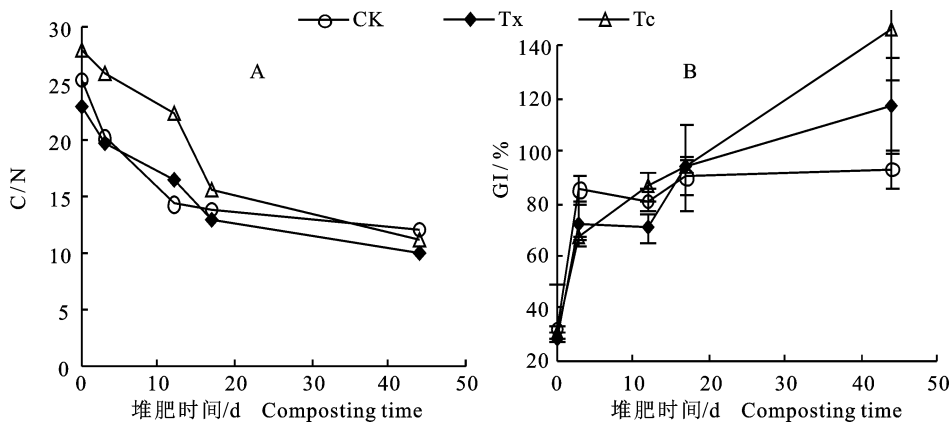


图 3 不同堆肥处理中 C/N 和 GI 的变化

Fig.3 Changes in C/N and GI during the composting of different treatments

2.2 堆肥过程中 NH₃ 的排放

堆肥过程中各处理的 NH₃ 排放量和积累量如图 4 所示。从图 4-A 可以看出,堆肥过程中 NH₃ 排放的峰值集中在高温阶段,即前 10 d,在各处理中分别占总排放量的 79.5%、75.4%和 83.0%,并在第 10 天翻堆后又出现回升,随后逐渐减

弱。CK、Tx、Tc 处理 NH₃ 的排放量分别在第 6、6、5 天达到最大值,分别为 1.868、1.575 和 1.285 g/d。图 4-B 显示了堆肥过程中 NH₃ 的累积排放量,CK、Tx、Tc 处理 NH₃ 的累积排放量分别达到 12.7、9.4 和 8.4 g/d, Tx 和 Tc 处理与对照相比分别降低 28.9%和 34.1%。

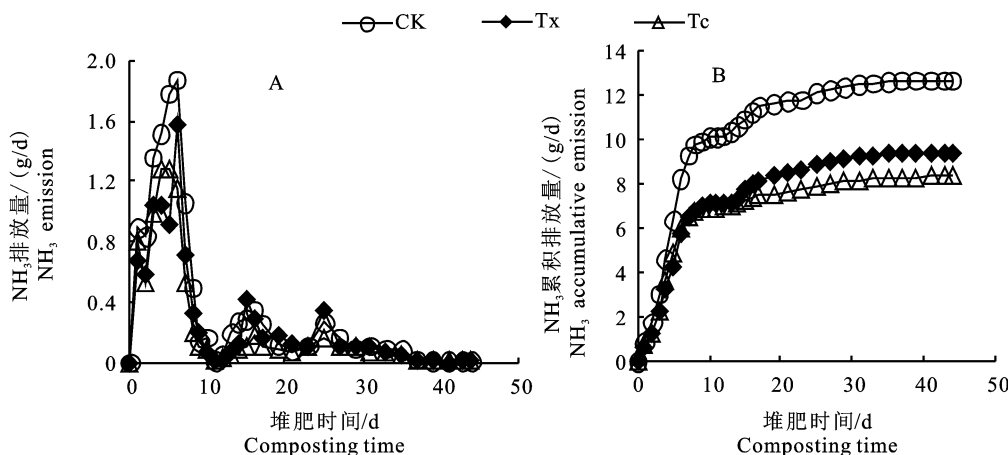


图 4 不同堆肥处理 NH₃ 的排放量和累积排放量的变化

Fig.4 Changes in emissions and acumulative emissions of NH₃ of different treatments during composting

2.3 堆肥过程中微生物群落结构变化

如图 5 所示,细菌群落在门水平上表现出较大的变化。在 13 个样品中,厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和软壁菌门(Tenericutes)是鸡粪

好氧堆肥过程中主要的门类水平类群,占总细菌总数的 93.3%~99.4%。厚壁菌门在堆肥高温期一直占主导地位,随着温度下降其丰度逐渐降低。变形菌门、放线菌门和绿弯菌门的相对丰度在降温期和腐熟期明显增高,分别比堆肥第 0 天升高了 2.66~3.85、1.30~1.87 和 66.3~111.6 倍。

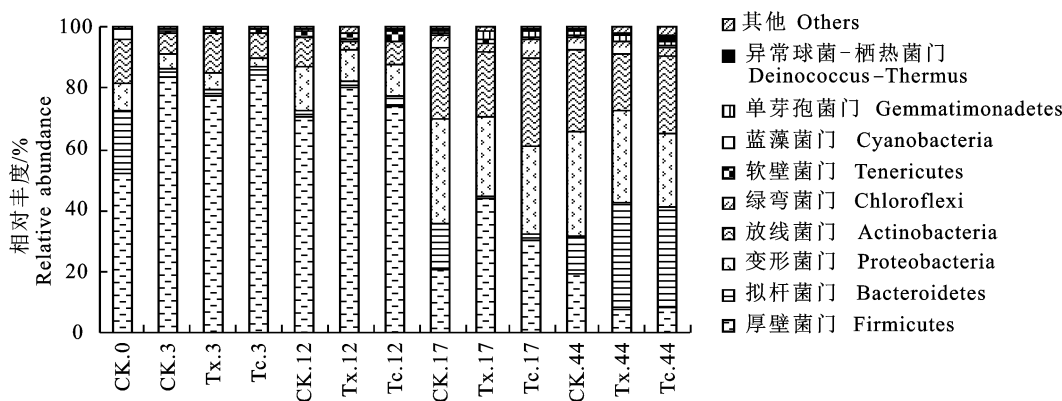


图 5 堆肥过程中主要门水平细菌相对丰度的变化

Fig.5 Changes in relative abundance of bacteria at main phylum levels during composting

将细菌群落相对丰度(基于门水平)和温度、pH、硝氮态氮、全氮(TN)、C/N、GI、NH₃ 进行冗余分析(图 6),对细菌群落和环境因子之间的关系进行探究。结果显示选取的环境因子共解释了细菌群落变化的 90.9%,RD1 轴解释了 84.8%,

RD2 轴解释了 6.1%。在所选的变量中温度和 pH 的解释度最高,分别为 20.34%和 17.51%,表明温度和 pH 是鸡粪堆肥过程中不同处理间细菌群落差异的主要驱动因子。

从表 2 可以看出,温度对主要的 6 大菌门均

呈显著相关性($P < 0.01$), pH 对于变形菌门、放线菌门及绿弯菌门呈显著正相关,而对厚壁菌门呈显著负相关($P < 0.01$)。厚壁菌门和变形菌门均与氮元素的转化有显著的相关性($P < 0.05$)。

表 2 微生物菌剂对鸡粪堆肥过程中理化性质与门水平微生物的 Spearman 相关系数

Table 2 Spearman's correlation coefficients between physicochemical properties and dominant bacterial phyla during chicken manure composting

指标 Index	厚壁菌门 Firmicutes	拟杆菌门 Bacteroidetes	变形菌门 Proteobacteria	放线菌门 Actinobacteria	绿弯菌门 Chloroflexi	软壁菌门 Tenericutes
T	0.931**	-0.777**	-0.787**	-0.785**	-0.717**	0.724**
pH	-0.848**	0.555*	0.838**	0.703**	0.758**	-0.325
TN	-0.611*	0.472	0.599*	0.393	0.525	-0.108
C/N	0.734**	-0.41	-0.817**	-0.597*	-0.706**	0.334
GI	-0.641*	0.493	0.571*	0.512	0.541	-0.229
NH ₃	0.571*	-0.402	-0.591*	-0.383	-0.431	0.024
NH ₄ ⁺ -N	0.585*	-0.28	-0.742**	-0.387	-0.579*	-0.044
NO ₃ ⁻ -N	-0.646*	0.571*	0.57*	0.494	0.491	-0.469

注: * 相关系数在 0.05 水平(双侧)上显著相关。 ** 相关系数在 0.01 水平(双侧)上显著相关。

Note: * Correlation coefficient was significantly correlated at 0.05 level (bilateral). ** Correlation coefficient was significantly correlated at 0.01 level (bilateral).

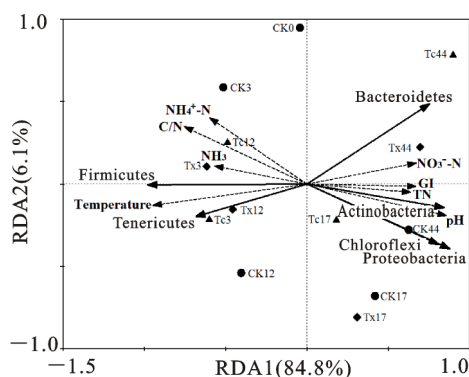


图 6 堆肥过程中不同处理环境因子对细菌群落结构的冗余分析

Fig.6 Redundancy analysis between environmental factors and bacterial community structure by different treatment during composting

3 讨论

好氧堆肥是处理养殖场废弃物主要方式,但当前堆肥腐熟周期较长,堆制过程中会产生大量 NH₃ 而造成养分损失,其臭味也会带来环境二次污染等问题^[22]。通过外源接种微生物菌剂可以加速堆肥进程或减少有害气体的排放^[23-25]。因此本试验在鸡粪堆肥过程中分别接种 Tx 和 Tc 2 种微生物菌剂,探究其对堆肥过程中 NH₃ 排放的影响及不同理化因子和微生物群落之间的相关性。

接种 Tx 和 Tc 微生物菌剂对促进堆肥进程、

减少 NH₃ 排放都具有积极作用。与 CK 相比, Tx 和 Tc 处理升温较快,且在 55 °C 以上多维持了 2 d,这与陈霞等^[26]研究结果类似,表明接种微生物菌剂提高了堆体的升温速率,延长了高温期持续时间,有利于杀灭畜禽粪便中存在的寄生虫卵,这是因为菌剂的接种刺激了微生物的增殖,提高了微生物的整体代谢活性^[27-28]。GI 和 C/N 作为评价腐熟度的指标,表明堆肥对降低鸡粪的毒性具有明显效果,有利于促进堆肥腐熟。这与王若斐等^[29]研究结果一致,这可能是微生物群落共同作用加速生物降解的结果。pH 的变化会影响微生物活性进而影响堆肥进程^[30],本试验中各处理 pH 均先下降后上升至稳定,这与堆肥物料中有机酸的产生和 NH₃ 的释放有关^[31]。由于初期含水率偏高,局部堆肥发酵呈厌氧状态,微生物产生的有机酸类物质积累使得 pH 在初期下降^[32],随着堆肥过程进入高温期,在微生物参与的有机氮矿化和氨化共同作用下产生了 NH₃^[33],因此各处理 pH 又增加。高温阶段 CK 处理 pH 上升最大, Tc 处理 pH 上升最小,说明 Tc 处理减少了堆肥过程中 NH₃ 的挥发。氮素的相对变化是堆肥过程中一个比较复杂的过程,从本试验硝态氮的变化趋势可以看出,在降温期 NH₄⁺-N 向 NH₃ 的转化速率降低并得到积累,在随后过程中大部分 NH₄⁺-N 被硝化和反硝化微生物所利用^[34-35],因此在堆肥后期 NO₃⁻-N 表现出较高的质量分数。在整个过程中,CK 处理的 NH₄⁺-N

质量分数一直低于 T_x 和 T_c 处理,表明接种微生物菌剂在一定程度上可以削弱氨化作用从而减少 NH₃ 的排放。NH₃ 的挥发作为堆肥中不可避免的副产物是本研究的一个重点,结合其他理化指标可以看出高温高 pH 会促进 NH₃ 的排放,这与 Pan 等^[36]研究结果一致。结果表明,T_x 和 T_c 微生物菌剂均在一定程度上降低了 NH₃ 排放量,且 T_c 对 NH₃ 的控制效果最好。堆肥过程中因 NH₃ 流失而产生的臭味是不可避免的,并且堆肥产品的养分质量分数也会降低。氮素在堆肥过程中会因有机氮的矿化、持续性的 NH₃ 挥发或反硝化作用而造成损失^[37],本试验中全氮质量分数逐渐增加是由于有机物质的生物降解会使得总干物质减少,这种相对增加是因为总干物质的减少速率大于氮素的释放速率^[38],这与徐刚等^[39]研究结果一致。由堆肥前后全氮质量分数变化可以看出,接菌处理提高了最终堆肥产品中全氮的质量分数,这种较好的保氮效果可能与 NH₃ 挥发量的减少有关。因此,T_c 菌剂具有良好的除臭保氮特性。

通过对鸡粪堆肥过程中不同处理进行门水平细菌群落结构分析,发现堆肥过程中细菌群落是不断演化的,堆肥过程中主要的门类与 Qian 等^[40]的研究一致。堆肥初始阶段,厚壁菌门丰度最高(52.5%),经高温期增加后,在降温期逐渐下降腐熟期降至最低。有研究表明厚壁菌门成为堆肥高温期的优势菌门可能与厚壁菌门的内孢子具有耐热性有关^[41],可以对抗外界的恶劣环境。还有研究表明,厚壁菌门对促进纤维素的降解和利用起着特殊的作用^[42]。而变形菌门和放线菌门在降温期和腐熟期占据主导地位成为优势菌群,这与殷亚楠^[43]研究结果一致。放线菌门的相对丰度在堆肥过程中逐渐增加并于堆肥结束时保持稳定,研究表明堆肥过程中放线菌门的大量出现是堆肥腐熟的标志之一^[44]。与此同时,拟杆菌门的相对丰度也逐渐增加,这种门主要存在于堆肥成熟期,被认为是专门降解高分子量化合物的细菌^[45-46]。在堆肥结束时,T_x 和 T_c 处理的拟杆菌门相对丰度分别较 CK 高 2.96 和 2.82 倍,这可能是接种微生物菌剂的处理腐熟程度高的原因。

环境要素的变化会影响微生物群落的组成,本研究通过冗余分析(RDA)可以更直观地表达影响堆肥过程中微生物群落特征的主要环境因子。RDA 的结果表明,各堆肥处理的微生物群落

随堆肥进程发生变化,温度和 pH 是堆肥过程中微生物群落结构改变的主要驱动因子。Spearman 相关性分析结果表明,温度与厚壁菌门呈显著正相关,与放线菌门、变形菌门呈显著负相关,这解释了微生物群落在堆肥过程中产生动态变化的原因。此外,堆肥过程中的优势菌群厚壁菌门与主要氮素转化指标(NH₄⁺-N)呈显著正相关,变形菌门与 NO₃⁻-N 呈显著正相关,说明这 2 种门水平微生物在氮素的转化和释放过程中发挥着重要作用。有研究表明变形菌门是堆肥过程中 *nirS* 基因型反硝化微生物主要的宿主菌,厚壁菌门和变形菌门是固氮微生物 *nifH* 基因主要宿主菌^[43]。在后续研究中可通过微生物属水平和相关功能基因进一步探究堆肥过程中与氮损失相关的功能微生物以期减少 NH₃ 或 N₂O 的排放并对功能微生物的表达和代谢途径进行深入研究。

4 结论

本试验研究了接种 2 种不同的微生物菌剂对鸡粪堆肥过程中基本理化参数、NH₃ 排放和微生物群落的影响。结果表明,堆肥中接种 T_x 和 T_c 微生物菌剂均可以加速堆体升温,使得高温期延长,提高堆肥的腐熟度。T_x 和 T_c 微生物菌剂均对鸡粪堆肥过程中 NH₃ 排放有一定的抑制作用,还能增加堆肥产品的全氮,T_c 微生物菌剂对 NH₃ 的控制效果更好,具有较好的除臭保氮效果。接种微生物菌剂会对微生物群落结构和组成产生影响,冗余分析结果表明,温度和 pH 是影响微生物群落结构变化的主要驱动因子。厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)在氮素的转化和释放过程中发挥着重要作用,今后可以对其相关的功能微生物进行深入研究,以期减少氮素的损失,进而生产高质量的堆肥产品。

参考文献 Reference:

- [1] 王亚辉.异位发酵床:养殖废弃物资源化利用新模式[J].中国猪业,2017,12(7):22.
WANG Y H.Ectopic fermentation bed:a new model for resource utilization of culture waste[J].China Swine Industry,2017,12(7):22.
- [2] 张海滨,孟海波,沈玉君,等.好氧堆肥微生物研究进展[J].中国农业科技导报,2017(3):7-14.
ZHANG H B,MENG H B,SHEN Y J,et al.Research progress on microbial aerobic composting[J].Journal of Agricultural Science and Technology,2017(3):7-14.
- [3] 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(6):97-106.
- LI SH Q,ZHANG J D,JI CH,*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(6):97-106.
- [4] 王卫平,汪开英,薛智勇,等.不同微生物菌剂处理对猪粪堆肥中氨挥发的影响[J].应用生态学报,2005,16(4):693-697.
- WANG W P,WANG K Y,XUE ZH Y,*et al.* Effects of microbial agents on NH₃ emission during pig manure composting [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(4):693-697.
- [5] XIE X Y,ZHAO Y,SUN Q H,*et al.* A novel method for contributing to composting start-up at low temperature by inoculating cold-adapted microbial consortium [J]. *Biore-source Technology*, 2017,238:39.
- [6] 王宇,赵述森,胡咏梅,等.几种微生物及其组合在猪粪堆肥发酵中的作用[J].湖北农业科学,2009,48(1):81-84.
- WANG Y,ZHAO SH M,HU Y M,*et al.* Effects of microbe and microbe combinations in pig excrement compost [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2009,48(1):81-84.
- [7] 黄颖婕,周尚峰,刘震夷,等.牛粪堆肥纤维素高效降解菌的筛选和应用[J].湖南农业科学,2018(2):50-53.
- HUANG Y J,ZHOU SH F,LIU ZH Y,*et al.* The screening and application of efficiently cellulose degradation bacteria in cow dung compost [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2018(2):50-53.
- [8] 于洪久,郭炜,王大蔚,等.微生物菌剂对堆肥过程中氨挥发的影响[J].黑龙江八一农垦大学学报,2016,28(1):73-75.
- YU H J,GUO W,WANG D W,*et al.* Effects of microorganism agent on ammonia volatilization during manures composting [J]. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2016,28(1):73-75.
- [9] 王守红,朱凌宇,徐荣,等.菌剂添加对牛粪堆肥氮素变化及腐熟度影响[J].安徽农业大学学报,2017,44(4):659-664.
- WANG SH H,ZHU L Y,XU R,*et al.* Nitrogen changes and maturity of cow manure composting influenced by microbial inoculum [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2017,44(4):659-664.
- [10] HAGEMAN N,SUBDIAGA E,ORSETTI S,*et al.* Effect of biochar amendment on compost organic matter composition following aerobic composting of manure [J]. *Science of the Total Environment*, 2018,613:20-29.
- [11] 史龙翔,谷洁,潘洪加,等.复合菌剂提高果树枝条堆肥过程中酶活性[J].农业工程学报,2015,31(5):244-251.
- SHI L X,GU J,PAN H J,*et al.* Improving enzyme activity by compound microbial agents in compost with mixed fruit tree branches and pig manure during composting [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015,31(5):244-251.
- [12] 解开治,徐培智,张发宝,等.接种微生物菌剂对猪粪堆肥过程中细菌群落多样性的影响[J].应用生态学报,2009,20(8):2012-2018.
- XIE K ZH,XU P ZH,ZHANG F B,*et al.* Effects of microbial agent inoculation on bacterial community diversity in the process of pig manure composting [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009,20(8):2012-2018.
- [13] LI R,WANG J J,ZHANG Z,*et al.* Nutrient transformations during composting of pig manure with bentonite [J]. *Bioresource Technology*, 2012,121:362-368.
- [14] YANG F,LI Y,HAN Y,*et al.* Performance of mature compost to control gaseous emissions in kitchen waste composting [J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 657:262-269.
- [15] 鲍士旦.土壤农化分析[M].第3版.北京:中国农业出版社,2000:432-437.
- BAO SH D. Soil and Agricultural Chemistry Analysis [M]. 3rd ed. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000:432-437.
- [16] ZUCCONI F. Evaluating Toxicity of Immature Compost [J]. *Biocycle*, 1981,22(2):54-57.
- [17] 李艳霞,王敏健,王菊思.有机固体废弃物堆肥的腐熟度参数及指标[J].环境科学,1999,20(2):98-103.
- LI Y X,WANG M J,WANG J S. The maturity indexes and standards of organic solid waste composting [J]. *Environmental Science*, 1999,20(2):98-103.
- [18] TIQUIA S M. Reduction of compost phytotoxicity during the process of decomposition [J]. *Chemosphere*, 2010, 79(5):506-512.
- [19] REYES-TORRES M, OVIEDO-OCAA E R, DOMINGUEZ I,*et al.* A systematic review on the composting of green waste: Feedstock quality and optimization strategies [J]. *Waste Management*, 2018,77:486-499.
- [20] MOREL J L, COLIN F, GERMON J C,*et al.* Methods for the Evaluation of the Maturity of Municipal Refuse Compost [M]. London & New York. Applied Science Publish, 1985:56-72.
- [21] QUEDA A C C, VALLINI G, AGNOLUCCI M,*et al.* Microbiological and Chemical Characterisation of Composts at Different Levels of Maturity, with Evaluation of Phytotoxicity and Enzymatic Activities [M]. INSAM H, RIDDECH N, KLAMMER S,*et al.* Microbiology of Composting, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2002: 345-355.
- [22] 张陇利,劳德坤,李季,等.密闭式堆肥反应器中复合微生物菌剂对堆肥效果的影响[J].环境工程,2014,32(1):102-107.
- ZHANG L L, LAO D K, LI J,*et al.* Effects of compound microbial inoculants of composting in hermetic bioreactors [J]. *Environmental Engineering*, 2014,32(1):102-107.
- [23] 席北斗,刘鸿亮,黄国和,等.复合微生物菌剂强化堆肥技

- 术研究[J].环境污染与防治,2003,25(5):262-264.
- XI B D, LIU H L, HUANG G H, *et al.* Study on inoculation technology of complex microbial community for composting enhancement [J]. *Environmental Pollution and Control*, 2003, 25(5): 262-264.
- [24] 孙 干, 裴宗平, 涂永成, 等. 复合微生物菌剂在有机堆肥中的应用研究[J]. 北方园艺, 2015(15): 166-170.
- SUN G, PEI Z P, TU Y CH, *et al.* Application of complex microbial agents on organic composting process [J]. *North-ern Horticulture*, 2015(15): 166-170.
- [25] 官昭瑛, 张 安, 朱兆华, 等. 复合微生物菌剂对河道底泥资源化堆肥效果的影响[J]. 广东农业科学, 2016, 43(12): 41-49.
- GUAN ZH Y, ZHANG A, ZHU ZH H, *et al.* Effects of complex microbial inoculums on river sediment composting [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2016, 43(12): 41-49.
- [26] 陈 霞, 罗友进, 程玥晴, 等. 不同微生物菌剂对中药渣堆肥过程及理化性质的影响[J]. 西南农业学报, 2017, 30(12): 24.
- CHEN X, LUO Y J, CHENG Y Q, *et al.* Effect of different microbial agents on chinese herbal residue composting process and its physical-chemical properties [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 30(12): 24.
- [27] 刘 佳, 李 婉, 许修宏, 等. 接种纤维素降解菌对牛粪堆肥微生物群落的影响[J]. 环境科学, 2011, 32(10): 3073-3081.
- LIU J, LI W, XU X H, *et al.* Effect of cellulose-decomposing strain on microbial community of cow manure compost [J]. *Chinese Journal of Environmental Science*, 2011, 32(10): 3073-3081.
- [28] 史龙翔. 纤维素降解菌的筛选及其在果树枝条腐解中的应用[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- SHI L X. Screening of cellulose degradation bacterium and its application in compostion of fruit tree branches [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2015.
- [29] 王若斐, 刘 超, 操一凡, 等. 不同碳氮比猪粪堆肥及其产品肥效[J]. 中国土壤与肥料, 2017(6): 127-134.
- WANG R F, LIU CH, CAO Y F, *et al.* Research on the composting of pig manure and rice husk with different C/N and plant growth promotion effects of the products [J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2017(6): 127-134.
- [30] 王 飞, 张 硕. 填充物和初始 pH 值对猪粪堆肥效果的影响[J]. 浙江农业科学, 2005, 1(4): 298-300.
- WANG F, ZHANG SH. Effect of filler and initial pH on the composting effect of pig manure [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2005, 1(4): 298-300.
- [31] YU H, HUANG G H. Effects of sodium acetate as a pH control amendment on the composting of food waste [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(6): 2005-2011.
- [32] WANG S P, ZHONG X Z, WANG T T, *et al.* Aerobic composting of distilled grain waste eluted from a Chinese spirit-making process: The effects of initial pH adjustment [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 778-785.
- [33] 张红玉. 碳氮比对厨余垃圾堆肥腐熟度的影响[J]. 环境工程, 2013, 31(2): 87-91.
- ZHANG H Y. Effects of C/N Ratio on the maturity during kitchen waste composting [J]. *Environmental Engineering*, 2013, 31(2): 87-91.
- [34] 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.
- [35] AWASTHI M K, WANG Q, AWASTHI S K, *et al.* Influence of medical stone amendment on gaseous emissions, microbial biomass and abundance of ammonia oxidizing bacteria genes during biosolids composting [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 970-979.
- [36] PAN J, CAI H, ZHANG Z, *et al.* Comparative evaluation of the use of acidic additives on sewage sludge composting quality improvement, nitrogen conservation, and greenhouse gas reduction [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 270: 467-475.
- [37] ZHAO L, HADLOCON L J S, MANUZON R B, *et al.* Ammonia concentrations and emission rates at a commercial poultry manure composting facility [J]. *Biosystems Engineering*, 2016, 150: 69-78.
- [38] FANG M, WONG J W C, MA K K, *et al.* Co-composting of sewage sludge and coal fly ash: nutrient transformations [J]. *Bioresource Technology*, 1999, 67(1): 19-24.
- [39] 徐 刚, 高文瑞, 王 虹, 等. 不同初始 pH 值及覆盖材料对中药渣堆肥效果的影响[J]. 江苏农业学报, 2015(6): 1330-1336.
- XU G, GAO W R, WANG H, *et al.* Effect of initial pH values and covering plastic films on herbal residues composting [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2015(6): 1330-1336.
- [40] QIAN X, SUN W, GU J, *et al.* Variable effects of oxytetracycline on antibiotic resistance gene abundance and the bacterial community during aerobic composting of cow manure [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 315: 61-69.
- [41] GALPERIN M Y. Genome diversity of spore-forming firmicutes [J]. *Microbiology Spectrum*, 2013, 1(2): 1-15.
- [42] YIN Y, GU J, WANG X, *et al.* Effects of copper addition on copper resistance, antibiotic resistance genes, and intl1 during swine manure composting [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 344.
- [43] 殷亚楠. 铜对畜禽粪便堆肥过程中微生物群落及抗性基因影响机理研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- YIN Y N. Effect and mechanism of copper on microbial communities and resistance genes during aerobic composting of animal manure [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2018.

- [44] CHENG WANG, XIAOHUI GUO, HUI DENG, *et al.* New insights into the structure and dynamics of actinomycetal community during manure composting[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(7): 3327-3337.
- [45] ZHU Y, WANG Y, JIANG X, *et al.* Microbial community compositional analysis for membrane bioreactor treating antibiotics containing wastewater[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 325: 300-309.
- [46] ZHAO X, HE X, XI B, *et al.* The evolution of water extractable organic matter and its association with microbial community dynamics during municipal solid waste composting[J]. *Waste Management*, 2016, 56: 79-87.

Effects of Microbial Agents on Ammonia Emission and Microbial Community during Chicken Manure Composting

YU Jing, GU Jie, WANG Xiaojuan, GUO Honghong, WANG Jia, ZHANG Kaiyu, DAI Xiaoxia and ZHAO Wenya

(College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract This study carried out aerobic composting of chicken manure and straw, three treatments were set up: non-inoculation agent CK, inoculation of Tx microbial agents and Tc microbial agents, to study the physical and chemical parameters, NH₃ emission and microbial community changes during chicken manure composting. The results showed that Tx and Tc treatments accelerate the heating process of composting and prolong the high temperature period. Compared with CK, the cumulative emissions of NH₃ by Tx and Tc decreased by 28.9% and 34.1%, respectively. And the total nitrogen mass fraction increased by 24.9% and 23.7%, respectively. Tc microbial agents have a good effect on promoting compost maturity and deodorization and nitrogen retention. High-throughput sequencing results showed that Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria and Actinobacteria were the predominant phyla in the composting process, and inoculation of microbial agents alters microbial community structure. RDA results showed that temperature and pH are the main reasons for the difference in bacterial community structure during chicken manure composting.

Key words Microbial agent; Compost; Ammonia; Microbial community

Received 2019-05-10 **Returned** 2019-06-26

Foundation item Science and Technology Plan Key Project of Shannxi (No. 2017ZDCXL-SF-03-03); the National Natural Science Foundation of China (No. 41671474, No. 41601531).

First author YU Jing, female, master student. Research area: harmless treatment and resource utilization of agricultural waste. E-mail: 893593983@qq.com

Corresponding author GU Jie, male, research fellow. Research area: harmless treatment and resource utilization of agricultural waste. E-mail: gujie205@sina.com

(责任编辑:潘学燕 **Responsible editor: PAN Xueyan**)