



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111363684 B

(45) 授权公告日 2020.12.15

(21) 申请号 201910877067.6

(74) 专利代理机构 南京天华专利代理有限责任

(22) 申请日 2019.09.17

公司 32218

(65) 同一申请的已公布的文献号

代理人 傅婷婷 徐冬涛

申请公布号 CN 111363684 A

(51) Int.CI.

(43) 申请公布日 2020.07.03

C12N 1/14 (2006.01)

(83) 生物保藏信息

C12N 1/20 (2006.01)

CGMCC No.18135 2019.06.24

C05F 11/08 (2006.01)

CGMCC No.18020 2019.06.24

C05F 15/00 (2006.01)

CGMCC No.16736 2018.11.12

C12R 1/645 (2006.01)

(73) 专利权人 南京农业大学

C12R 1/01 (2006.01)

地址 211225 江苏省南京市溧水区白马镇

C12R 1/07 (2006.01)

国家农业科技园南京农业大学基地

审查员 唐亚丽

(72) 发明人 沈其荣 何宇宙 李荣 刘东阳

权利要求书1页 说明书9页 附图3页

沈标 徐渭

## (54) 发明名称

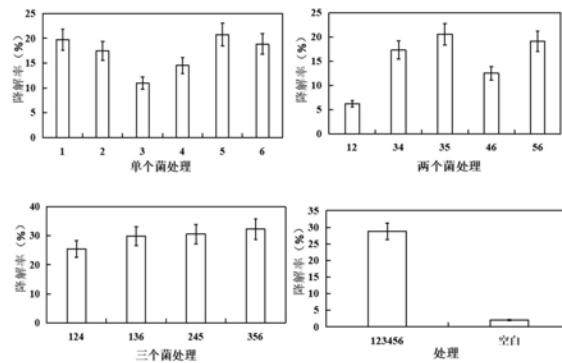
一种木质纤维高效降解复合菌剂及其在堆肥中的应用

## (57) 摘要

本发明提供一种木质纤维高效降解复合菌剂及其在堆肥中的应用。本发明目的在于进一步提高畜禽养殖粪污和秸秆类废弃物的堆肥效果，开发出一种含有米黑根毛霉菌NJAU-F4-5，芽孢杆菌NJAU-N20和芽孢杆菌NJAU-N30的复合菌剂，为畜禽养殖粪污和秸秆类废弃物高效堆肥提供复合菌资源及技术支撑。所述的复合菌剂的应用为其加速堆肥发酵。步骤如下：将畜禽粪污与秸秆按照一定C/N混匀后接种液体复合菌剂，砌成条垛后，采用条垛式发酵工艺，翻抛发酵。相比于对照不添加菌种和添加单菌处理，复合菌剂的添加有效促进了堆肥初期堆体温度的升高，促使堆体提前进入降温期，促进堆肥产品发芽指数的提高，有效驱动了堆肥腐熟。

B

CN 111363684



1. 一种微生物组合物,其特征在于由保藏号为CGMCC No.18135的米黑根毛霉菌(*Rhizomucor miehei*) NJAU-F4-5、保藏编号为CGMCC No.18020的罗伊氏短芽孢杆菌(*Brevibacillus reuszeri*) NJAU-N20和保藏编号为CGMCC No.16736的芽孢杆菌(*bacillus sp.*) NJAU-N30组成。

2. 权利要求1所述的微生物组合物在制备木质纤维高效降解复合菌剂中的应用。

3. 一种木质纤维高效降解复合菌剂,其特征在于由浓度为 $10^9$ 个/ml的保藏号为CGMCC No.18135的米黑根毛霉菌(*Rhizomucor miehei*) NJAU-F4-5发酵液、浓度为 $10^9$ CFU/ml的保藏编号为CGMCC No.18020的罗伊氏短芽孢杆菌(*Brevibacillus reuszeri*) NJAU-N20发酵液和浓度为 $10^9$ CFU/ml的保藏编号为CGMCC No.16736的芽孢杆菌(*bacillus sp.*) NJAU-N30发酵液等体积组成。

4. 权利要求3所述的木质纤维高效降解复合菌剂的制备方法,其特征在于包含将真菌NJAU-F4-5接种到PDA液体培养基中,在55 °C、170 rpm条件下培养2天;将菌株芽孢杆菌NJAU-N20和芽孢杆菌NJAU-N30分别接种到LB培养基中,在55°C、170 rpm 下培养2天,待培育结束后,细菌用无菌水调OD值、真菌用血球计数板计孢子数量,使各菌液的浓度都在 $10^9$ 个/ml或CFU/ml,使各菌液的浓度都相同,然后按照体积比例1:1:1混匀,形成木质纤维高效降解复合菌剂。

5. 权利要求3所述的复合菌剂在生产有机肥中的应用。

6. 采用权利要求3 所述的复合菌剂生产有机肥的方法,其特征在于通过以下步骤实现:

(1) 原料混合:将玉米秸秆切碎,与新鲜猪粪按照堆体C/N值25:1配比混合均匀,初始含水率调节至70%~75%,接种权利要求3所述的复合菌剂,接种量为10 ml/kg,接种后均匀混合堆体材料,再砌成条垛状,堆体基料宽1~1.2米,高1.5~1.8米,长度不限;

(2) 堆肥发酵:有机肥发酵基料按条垛式堆放于发酵棚内后,采用人工翻堆发酵,堆心温度达70°C以上时开始翻堆,5天翻堆1次,翻堆5~7次停止翻堆,发酵时间共计30~40天;

(3) 后熟处理:堆肥发酵结束后,后熟堆放10天后发酵结束制得有机肥。

7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于控制堆肥发酵温度,发酵时间,翻堆次数,使堆肥含水量低于30%,色泽发黑。

## 一种木质纤维高效降解复合菌剂及其在堆肥中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于农业微生物领域,公开了一种木质纤维高效降解的微生物复合菌剂及生产实践应用。

### 背景技术

[0002] 中国是世界上的农业大国,也是秸秆资源大国,每年农作物收割后将会产生超过9亿吨的秸秆。近年来,国家相继出台了禁止燃烧秸秆的法律法规;秸秆沼气化技术目前不够成熟,在农村地区推广不易;露天堆放由于缺乏功能微生物不能高效降解秸秆。另外,我国畜牧业产值的比重越来越大。另一方面,我国目前大多数农户家已经不再养猪和其他家禽,我国的畜牧业已经完全进入规模化养殖阶段,我国高度集约化的养殖业是世界上任何一个国家不能比拟的,万头、甚至几十万头的猪场、或几百万羽的禽场到处可见,确保了我国人民对肉类产品的需求。然而,高度集约化的养殖业同样产生大量的养殖粪污,如何高效处理这些废弃物同样至关重要,目前处理利用好氧发酵将养殖粪污转化为有机肥为常用方法,但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。但畜禽粪污和秸秆成分复杂,含蛋白质、脂肪类、有机酸、纤维素、半纤维素以及无机盐等成分组成,目前依靠单一菌种或简单组合的复合菌群降解不充分且速度慢。因此,开发具有高效降解畜禽养殖废弃物功能的微生物复合菌群是目前研究的重点。

[0003] 复合微生物是由两种及以上的微生物共同组成的群落。复合微生物菌剂相较于单一微生物菌剂更具有优势,能适应复杂环境,功效更强和更全。在实践生产上使用复合菌,能够促进畜禽养殖废弃物的降解,提高企业经济效益和生态环境效益。

### 发明内容

[0004] 技术问题本发明目的在于针对秸秆与畜禽粪污混合物,筛选新的高效高温木质纤维降解菌群,本发明筛选出一种含有米黑根毛霉菌NJAU-F4-5、芽孢杆菌NJAU-N20和芽孢杆菌NJAU-N30的复合菌剂,为秸秆与畜禽粪污混合物堆肥提供了技术支持及应用。

[0005] 本发明的目的可通过以下技术方案实现:

[0006] 一种微生物组合物,由保藏号为CGMCC No.18135的米黑根毛霉菌(*Rhizomucor miehei*)NJAU-F4-5、保藏编号为CGMCC No.18020的罗伊氏短芽孢杆菌(*Brevibacillus reuszeri*)NJAU-N20和保藏编号为CGMCC No.16736的芽孢杆菌(*bacillus sp.*)NJAU-N30组成。

[0007] 发明人选择6株在55度生长的高温菌株,利用断棒理论将6株菌组合成不同组合,测定单一菌株和混合菌群降解木质素、纤维素、淀粉与蛋白质的能力,从中筛选出活性最强且具最优的协同降解大分子有机物能力的优良复合菌群,即含有米黑根毛霉菌NJAU-F4-5、芽孢杆菌NJAU-N20和芽孢杆菌NJAU-N30的复合菌群。芽孢杆菌NJAU-N20、米黑根毛霉菌NJAU-F4-5、芽孢杆菌NJAU-N30已保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号分别为CGMCC No.18020、CGMCC No.18135和CGMCC No.16736。

[0008] 本发明微生物组合物中三株菌均能耐高温,能够在55度高温下生长;耐盐,能够在含盐15%的培养基中生产;3株微生物对作物无害,对人和动物无致病性;组合菌产外切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶活力达到12.2644U,内切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶活力达到12.6259U, $\beta$ -葡萄糖苷酶的酶活力达到17.5005U,中性木聚糖酶活力达到635.283U,滤纸酶活力达到0.5801U。

[0009] 本发明所述的微生物组合物在制备木质纤维高效降解复合菌剂中的应用。

[0010] 一种木质纤维高效降解复合菌剂,由浓度为 $10^9$ 个/ml的保藏号为CGMCC No.18135的米黑根毛霉菌(Rhizomucor miehei) NJAU-F4-5发酵液、浓度为 $10^9$ CFU/ml的保藏编号为CGMCC No.18020的罗伊氏短芽孢杆菌(Brevibacillus reuszeri) NJAU-N20发酵液和浓度为 $10^9$ CFU/ml的保藏编号为CGMCC No.16736的芽孢杆菌(bacillus sp.) NJAU-N30发酵液等体积组成。

[0011] 将真菌NJAU-F4-5接种到PDA液体培养基中,在55℃、170rpm条件下培养2天;将菌株芽孢杆菌NJAU-N20和芽孢杆菌NJAU-N30分别接种到LB培养基中,在55℃、170rpm下培养2天。

[0012] 待培育结束后,细菌用无菌水调OD值、真菌用血球计数板计孢子数量,使各菌液的浓度都在 $10^9$ 个/ml(真菌)或CFU/ml(细菌),使各菌液的浓度都相同。然后按照体积比例1:1:1混匀,形成复合菌剂。

[0013] 本发明所述的复合菌剂在生产有机肥中的应用。

[0014] 采用所述的复合菌剂生产有机肥的方法,通过以下步骤实现:

[0015] (1) 原料混合:将玉米秸秆切碎,与新鲜猪粪按照堆体C/N值25:1配比混合均匀,初始含水率调节至70%~75%,接种本发明所述的复合菌剂,接种量为10ml/kg,接种后均匀混合堆体材料,再砌成条垛状,堆体基料长宽1~1.2米,高1.5~1.8米,长度不限;

[0016] (2) 堆肥发酵:有机肥发酵基料按条垛式堆放于发酵棚内后,采用人工翻堆发酵,堆心温度达70℃以上时开始翻堆,5天翻堆1次,翻堆5~7次停止翻堆,发酵时间共计30~40天;

[0017] (3) 后熟处理:堆肥发酵结束后,后熟堆放10天后发酵结束制得有机肥。

[0018] 本发明方法中,优选控制堆肥发酵温度,发酵时间,翻堆次数,使堆肥含水量低于30%,色泽发黑。

[0019] 有益效果

[0020] 本发明提供了一种微生物复合菌剂,该菌剂能够高效降解秸秆与畜禽粪污混合物。此微生物复合菌剂含有3种高效降解木质纤维单菌,这些微生物在降解木质纤维过程中的分泌酶具有互补功能且协同作用明显,使木质纤维在高温条件下快速充分的降解,从而提高有机肥的生产效率,提高企业经济效益和生态环境效益。

[0021] 使用该复合菌剂对水稻秸秆粉末进行降解,半个月后秸秆的降解率达到32%以上,而此时最高效单菌的秸秆降解率21%不到,空白组秸秆的降解率仅为2.08%。可见复合菌剂对秸秆的降解效果比单菌和不加菌要好,能缩短降解时间,加快降解进程,节约生产成本。

[0022] 将筛选出的菌株及复合菌群应用到四川乐山工厂化秸秆猪粪混合物进行堆肥实验。添加组合菌处理的堆体经45天堆置,肥料中的含水量明显降低,腐熟程度和速度显著优于添加单菌处理和不添加处理。

## 附图说明

- [0023] 图1不同菌群组合对秸秆降解的影响;
- [0024] 图2秸秆堆肥过程中其余不同理化性状变化的影响;
- [0025] 图3猪粪秸秆堆肥过程中其余不同理化性状变化的影响;
- [0026] 生物材料保藏信息
- [0027] NJAU-F4-5, 分类命名米黑根毛霉菌*Rhizomucor miehei*, 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏地址为北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所, 保藏日期为2019年6月24日, 保藏编号为CGMCC No.18135。
- [0028] NJAU-N20, 分类命名为罗伊氏短芽孢杆菌*Brevibacillus reuszeri*, 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏地址为北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所, 保藏日期为2019年6月24日, 保藏编号为CGMCC No.18020。
- [0029] NJAU-N30, 分类命名为芽孢杆菌*bacillus sp*, 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏地址为北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所, 保藏日期为2018年11月12日, 保藏编号为CGMCC No.16736。

## 具体实施方式

- [0030] 单菌和复合菌组合
- [0031] 选择南京农业大学资源与环境科学学院先去分离筛选出的6株高效降解秸秆畜禽粪污细菌和真菌, 包括3株细菌和3株真菌。3种真菌分别为NJAU-F3-7、NJAU-F3-13、NJAU-F4-5, 进一步分别编号为1、2、3; 3种细菌分别为NJAU-NE8、NJAU-N20、NJAU-N30, 进一步分别编号为4、5、6。
- [0032] 将真菌接种到PDA液体培养基中, 在55℃、170rpm条件下培养2天; 将细菌接种到LB培养基中, 在55℃、170rpm下培养2天。待各菌长好后, 细菌用无菌水调OD值、真菌用血球计数板计孢子数量, 使各菌液的浓度都在 $10^9$ 个/ml(真菌)或CFU/ml(细菌), 根据断棒理论和随机区组设计设置1个菌、2个菌、3个菌、6个菌的组合, 组合菌为中各单菌总数相加与单一菌处理所含孢子或菌落的总数一致。
- [0033] 单菌分别为1, 2, 3, 4, 5, 6; 两个菌组合分别为1+2, 3+4, 3+5, 4+6, 5+6; 三个菌的组合有1+2+4, 1+3+6, 2+4+5, 3+5+6; 6个菌的组合为1+2+3+4+5+6。
- [0034] 实施案例1单菌和复合菌产木质纤维降解酶能力
- [0035] 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。
- [0036] (1)  $\beta$ -葡萄糖苷酶( $\beta$ -GC)活力测定
- [0037]  $\beta$ -葡萄糖苷酶分解对-硝基苯- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯, 后者在400nm有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算 $\beta$ -葡萄糖苷酶活力。
- [0038]  $\beta$ -GC (nmol/min/ml) =  $(\Delta A + 0.0027) \div 0.00543 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 61.39 \times (\Delta A + 0.0027)$
- [0039] (2) 外切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶(C1)活力测定
- [0040] 采用3,5-二硝基水杨酸法测定外切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶催化微晶纤维素降解产生的还原糖的含量。

[0041]  $C_1 (\mu\text{g}/\text{min}/\text{ml}) = 1000 \times (\Delta A + 0.0673) \div 6.4078 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 14.305 \times (\Delta A + 0.0673)$

[0042] (3) 内切- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶(Cx)活力测定

[0043] 采用3,5-二硝基水杨酸法测定内切- $\beta$ -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。

[0044]  $C_x (\mu\text{g}/\text{min}/\text{ml}) = 1000 \times (\Delta A + 0.0673) \div 6.4078 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 14.305 \times (\Delta A + 0.0673)$

[0045] (4) 滤纸酶(FPA)活力测定

[0046] 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540nm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。

[0047]  $FPA (\text{U}/\text{ml}) = (\Delta A + 0.0255) \div 0.2805 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.416 \times (\Delta A + 0.0255)$

[0048] (5) 中性木聚糖酶(NEX)活力测定

[0049] 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540nm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540nm吸光值增加速率,可计算NEX活力。

[0050]  $NEX (\text{nmol}/\text{min}/\text{ml}) = (\Delta A - 0.00058) \div 1.6904 \div 150 \div T \times 106 = 657 \times (\Delta A - 0.00058)$

[0051] 注:V<sub>反总</sub>:反应体系总体积;V<sub>样</sub>:加入反应体系中样本体积;T:反应时间

[0052]  $\Delta A$ :测定组与对照组的吸光值差

[0053] 结果与分析

[0054] 不同高温菌株单菌及组合菌在55℃下的酶活如表1所示。在所有的菌种组合中,组合菌多样性越高,对木质素和纤维素的降解能力越强,并且要强于其组成复合菌的各单菌酶活。在所有组合菌处理中,3+5+6(NJAU-N30+NJAU-F4-5+NJAU-N20)组合的酶活普遍高于任意两个菌组合、其他三个菌组合和六个菌组合,并且高于组成复合菌的各单菌酶活。表明在所有的菌种组合中,含有NJAU-N30+NJAU-F4-5+NJAU-N20的复合菌对木质素和纤维素的解能力效果最优。

[0055] 表1不同高温菌株单菌及组合菌在55℃下的酶活

	$\beta$ -GC (nmol/min/ml)	C1 (ug/min/ml)	Cx (ug/min/ml)	FPA (U/ml)	NEX (nmol/min/ml)
1	9.633±0.974	8.874±0.725	7.956±1.122	0.339 ± 0.024	410.602± 17.113
2	7.501±1.042	7.264±0.887	5.626±0.724	0.348 ± 0.027	402.841± 21.025
[0056]				0.365	427.186± 20.621
3	9.207±1.137	6.035±1.018	9.341±0.894	0.365 ± 0.044	430.199± 18.443
4	13.271±1.443	10.273± 1.054	11.274± 1.012	0.405 ± 0.026	417.444± 21.484
5	14.145±1.388	10.061± 1.127	12.499± 1.106	0.429 ± 0.021	

	6	12.207±1.221	11.773±1.221	12.165±1.004	0.395±0.035	593.541±12.643
	1+2	9.744±1.022	7.682±1.026	5.739±0.831	0.316±0.027	404.484±22.355
	3+4	11.782±0.672	5.107±0.773	12.443±1.424	0.411±0.036	431.088±24.067
	3+5	9.633±1.316	11.874±0.881	9.956±1.018	0.339±0.057	410.602±15.637
	4+6	12.092±1.054	9.441±0.9252	10.052±0.922	0.411±0.053	525.072±23.092
[0057]	5+6	14.226±0.557	12.085±1.044	11.227±0.785	0.504±0.046	478.226±17.886
	1+2+4	12.224±1.768	9.553±0.221	12.077±1.205	0.352±0.024	432.053±20.054
	1+3+6	16.552±1.435	10.847±1.322	12.144±0.776	0.319±0.028	497.074±21.225
	2+4+5	18.221±1.262	11.732±0.994	11.772±1.094	0.447±0.061	433.065±18.779
	3+5+6	17.501±1.322	12.264±1.046	12.63±0.667	0.582±0.023	502.084±20.281
	1+2+3+4+5+6	9.207±0.733	12.035±1.112	12.341±0.937	0.565±0.032	427.186±20.622

[0058] 注:β—GC表示β—葡萄糖苷酶,C1表示外切-β-1,4葡聚糖酶,Cx表示内切-β-1,4葡聚糖酶,FPA表示滤纸酶,NEX表示中性木聚糖酶

[0059] 实施例2单菌和复合菌对秸秆的降解效果

[0060] 称取一定量的秸秆粉末置于250ml三角瓶中,吸取总量相等的各菌液加入三角瓶中,并混合均匀,放入55度培养箱中培养,15天后,烘干样品称重,以不接菌种时的秸秆作为对照,通过失重法计算秸秆降解率。

[0061] 结果与分析

[0062] 不同菌群组合对秸秆降解的影响如图1所示。在所有单菌处理中,5号菌(NJAU-N20)降解效率最高,为20.75%。在两菌组合中,3号菌和5号菌的组合(NJAU-F4-5+NJAU-N20)降解率最高,为20.57%。在3菌组合中,3号菌、5号菌和6号菌的组合(NJAU-N30+NJAU-

F4-5+NJAU-N20)降解率最高,为32.28%。3个菌的最优组合对秸秆的降解率明显大于两菌及单菌处理。另外,6个菌的组合降解率为28.77%,空白组降解2.08%。

[0063] 根据室内秸秆降解结果,含有NJAU-N30+NJAU-F4-5+NJAU-N20的复合菌对秸秆的降解效果最优。

[0064] 实施例3功能菌在纯秸秆堆肥中的应用

[0065] 将筛选出的最优单菌NJAU-N20和NJAU-N30+NJAU-F4-5+NJAU-N20复合菌剂于四川省乐山市奥甘霖有限公司肥料厂,以纯秸秆为原料进行原位堆肥试验,试验共设计3个处理:秸秆,秸秆+单菌,秸秆+组合菌,分别标记为J1,J2,J3。

[0066] 试验流程

[0067] 1、原料准备:于室外堆场将玉米秸秆切碎。

[0068] 2、配料:将高效单菌和组合菌菌液按照1%比例加入切碎的玉米秸秆堆,此时秸秆组堆体初始含水量为70%,设计不接种菌的对照组。

[0069] 3、布料:用铲车将混合料转运至发酵仓进行条式发酵,布料完成后,采集样品两份,一份自然风干,一份鲜样保存于-80℃冰箱内;(采样方法:采用五点采样法,与堆肥四个方向和中间位置采集等量样品混合均匀)。

[0070] 4、翻堆:每隔5天翻堆一次,每次翻堆结束后,采集两份样品。

[0071] 5、记录:每天早晚记录堆体温度及室温,温度记录为早上11:00和下午17:00;

[0072] 6、堆肥结束:堆肥进行35天后,最后一次采集样品,共采集样品8次后,停止翻堆,使堆肥进入后熟发酵阶段。

[0073] 7、后熟处理:后熟堆放10天后,第9次采集样品后,发酵结束。

[0074] 8、检测:按照NY525-2012标准检测堆肥样品各理化性质,鲜样测定含水量、pH等指标;风干样检测有机质、N、P、K等指标。

[0075] 结果与分析

[0076] 以秸秆为堆肥原料的不同处理养分含量变化如表2和图2所示。相比于不加菌处理J1和加单菌处理J2,添加复合菌堆体J3在堆肥过程中,升温最快,高温期最高温度可达到74.5℃;添加复合菌堆体J3在堆肥过程中含水量下降最快,在堆肥结束时含水量为29.03%,相比于不加菌处理J1,在堆肥结束时下降了14.8%;三个堆体的pH变化趋势大致相同,在堆肥结束时,添加复合菌堆体J3的pH为6.54,添加单菌堆体J2的pH为6.57,不加菌处理为6.61,均小于8.5,符合国家标准NY525-2012;J3堆体发芽指数在堆肥结束时为93.45%,大于不加菌处理的J1和加单菌处理J2;J3处理有机质含量在堆肥结束时为52.03%,大于45%,符合国家标准NY525-2012;相比于不加菌处理J1和添加单菌的J2,添加复合菌堆体J3在堆肥结束时肥料中氮磷钾指标均为最高,分别为1.26%、0.61%和1.86%,促进了秸秆的腐熟。

[0077] 表2秸秆堆肥堆肥过程中养分含量的变化(%)

项目	J1		J2		J3	
	初始	结束	初始	结束	初始	结束
[0078]	全氮	0.62±0.02	1.01±0.11	0.59±0.07	1.14±0.01	0.63±0.07
	全磷	0.38±0.08	0.49±0.03	0.41±0.01	0.52±0.02	0.38±0.14
	全钾	1.68±0.01	1.74±0.17	1.65±0.09	1.76±0.03	1.65±0.05
						1.86±0.12

[0079] 实施例4功能菌在秸秆猪粪混合原料堆肥中的应用

[0080] 将筛选出的最优单菌NJAU-N20和NJAU-N30+NJAU-F4-5+NJAU-N20复合菌剂于四川省乐山市奥甘霖有限公司肥料厂,接种与纯秸秆与猪粪混合原料进行堆肥,试验共设计3个处理:猪粪+秸秆,猪粪+秸秆+单菌,猪粪+秸秆+组合菌分别标记为Z1,Z2和Z3。

[0081] 试验流程

[0082] 1、原料准备:于室外堆场将玉米秸秆切碎与新鲜猪粪按照堆体C/N值25:1配比混合均匀。

[0083] 2、配料:将高效单菌和组合均菌液按照1%比例加入堆肥处理中,此时猪粪组堆体初始含水量为73%左右。

[0084] 3、布料:用铲车将混合料转运至发酵仓进行条式发酵,布料完成后,采集样品两份,一份自然风干,一份鲜样保存于-80℃冰箱内;(采样方法:采用五点采样法,与堆肥四个方向和中间位置采集等量样品混合均匀)。

[0085] 4、翻堆:每隔5天翻堆一次,每次翻堆结束后,采集两份样品。

[0086] 5、记录:每天早晚记录堆体温度及室温,温度记录为早上11:00和下午17:00;

[0087] 6、堆肥结束:堆肥进行35天后,最后一次采集样品,共采集样品8次后,停止翻堆,使堆肥进入后熟发酵阶段。

[0088] 7、后熟处理:后熟堆放10天后,第9次采集样品后,发酵结束。

[0089] 8、检测:按照NY525-2012标准检测堆肥样品各理化性质,鲜样测定含水量、pH等指标;风干样检测有机质、N、P、K等指标。

[0090] 结果与分析

[0091] 以秸秆和猪粪混合物为堆肥原料的不同处理养分含量变化如表3和图3所示。相比于不加菌处理Z1和添加单菌处理Z2,添加复合菌堆体Z3在堆肥过程中,升温较快,高温期最高温度可达到75.5℃;添加复合菌堆体Z3在堆肥结束时含水量为28.44%;三个堆体的pH变化趋势大致相同,在堆肥结束时,添加复合菌堆体Z3的pH为7.24,添加单菌堆体Z2的pH为7.27,不加菌处理为7.41,均小于8.5,符合国家标准NY525-2012;Z3堆体发芽指数在堆肥结束时为93.45%,Z2堆体为90.65%,不加菌处理Z1为90.48%,均已达到腐熟要求,在堆肥后期Z3处理大于不加菌处理Z1和添加单菌处理Z2;Z3堆体有机质含量在堆肥结束时为47.57%,Z2堆体为47.77%,不加菌处理Z1为48.76%,均大于45%,符合国家标准NY525-2012;相比于不加菌处理Z1,添加复合菌堆体Z3在堆肥结束时肥料中氮磷钾之和为4.13%,相比于不加菌处理,增加了0.38%,提高了养分含量。

[0092] 根据实施例1-4,说明该复合菌剂对秸秆畜禽粪污混合物堆肥具有显著促进作用。

[0093] 表3猪粪秸秆堆肥过程中养分含量的变化(%)

项目	Z1		Z2		Z3	
	初始	结束	初始	结束	初始	结束
[0094]	全氮	1. 74±0. 07	1. 05±0. 02	1. 77±0. 03	1. 17±0. 01	1. 73±0. 07
	全磷	0. 98±0. 06	1. 56±0. 01	1. 01±0. 03	1. 65±0. 13	0. 98±0. 14
[0095]	全钾	1. 06±0. 07	1. 14±0. 09	1. 00±0. 11	1. 22±0. 06	1. 05±0. 05
						1. 26±0. 12

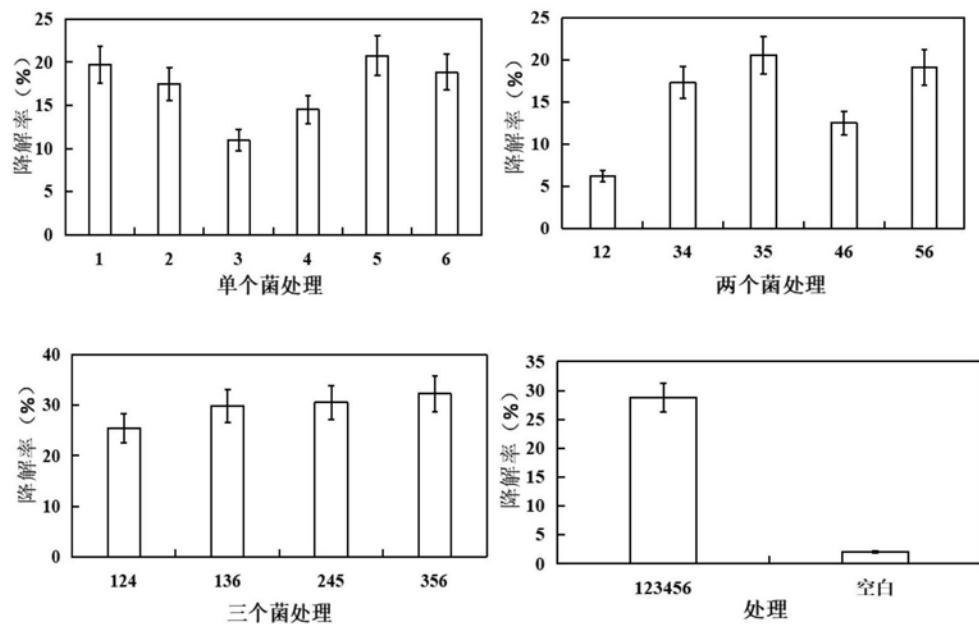
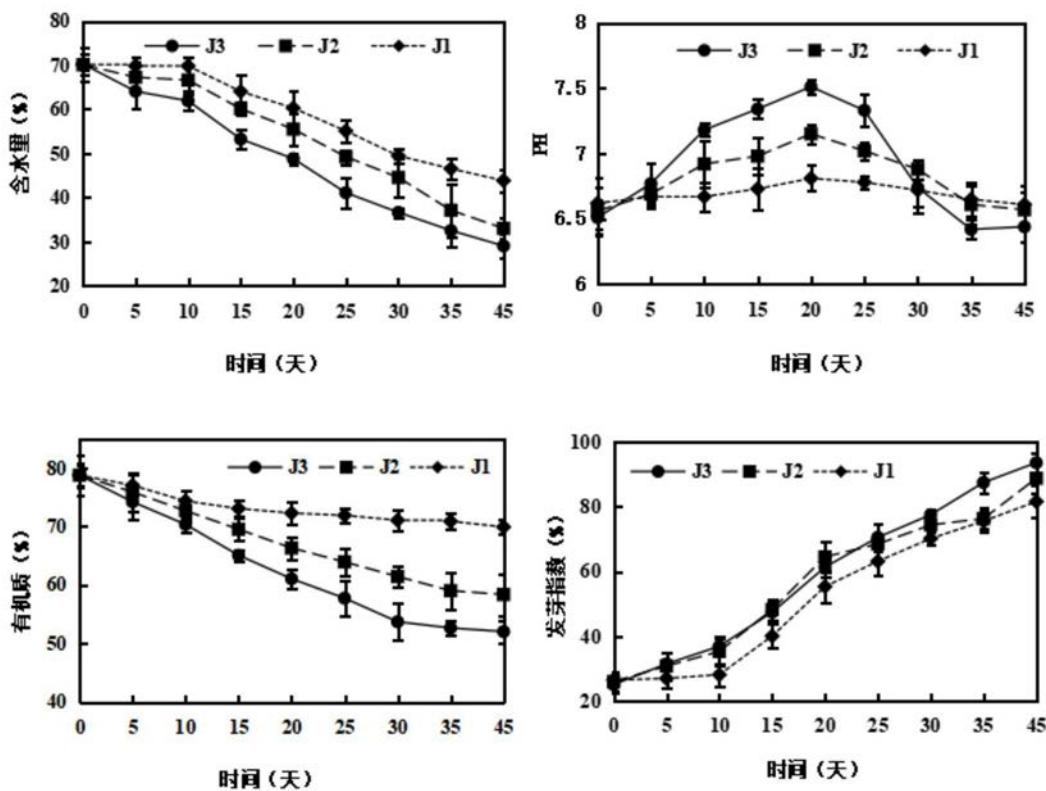


图1



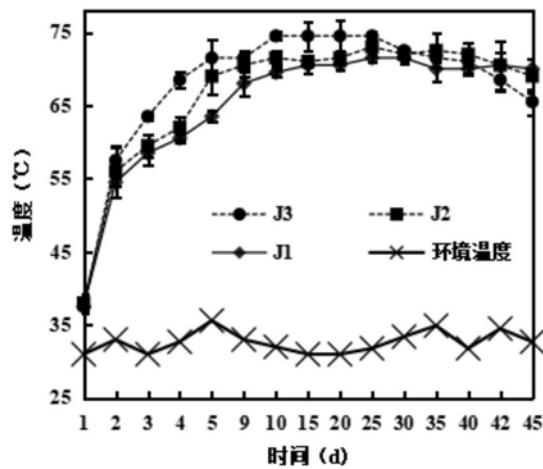
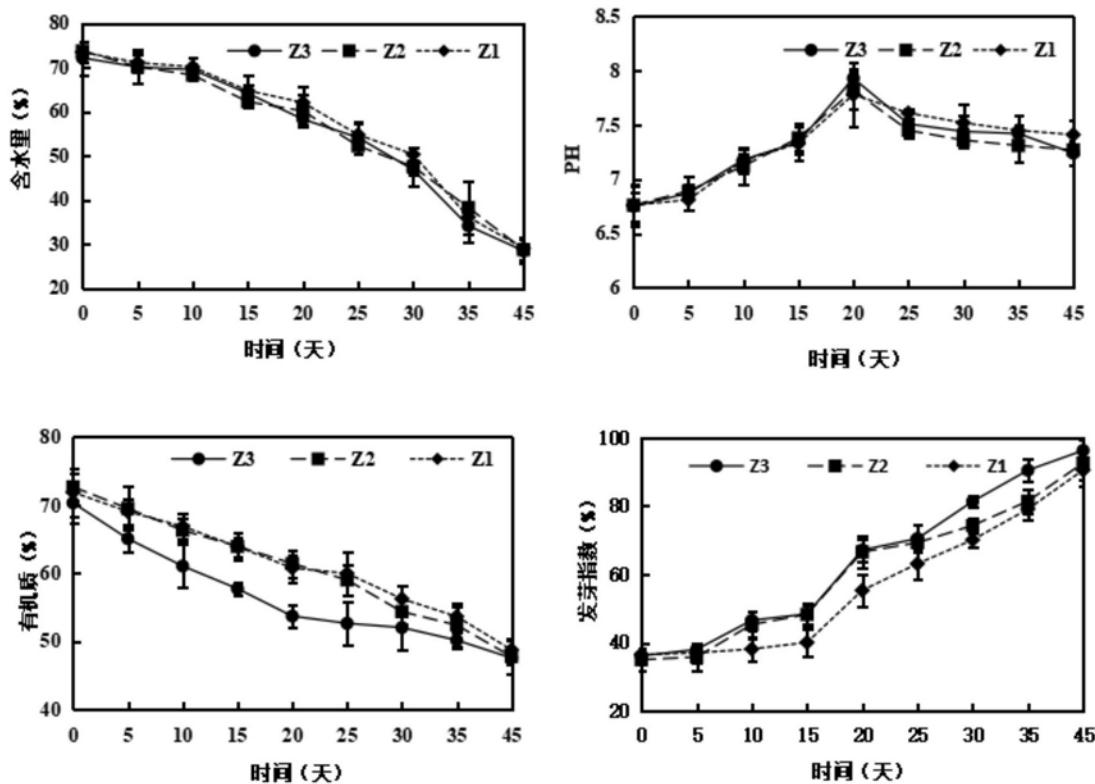


图2



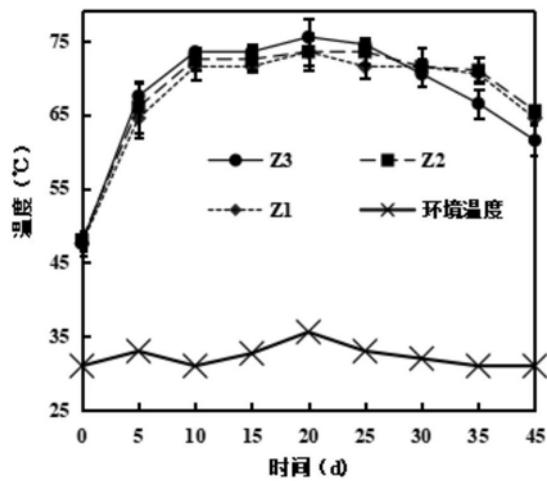


图3