



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115109727 A

(43) 申请公布日 2022. 09. 27

(21) 申请号 202210827483.7

C12R 1/40 (2006.01)

(22) 申请日 2022.07.13

C12R 1/885 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

(71) 申请人 西安工程大学

地址 710000 陕西省西安市金花南路19号

(72) 发明人 武占省 陶冶东 刘啸尘 孙琳琳

朱双喜 张子言 贺旭旭

(74) 专利代理机构 北京盛凡佳华专利代理事务

所(普通合伙) 11947

专利代理师 汤镇宇

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

C12N 1/14 (2006.01)

C05F 15/00 (2006.01)

C05F 17/20 (2020.01)

C12R 1/125 (2006.01)

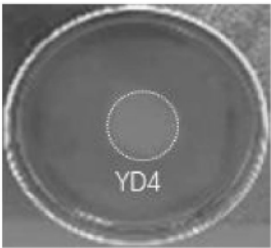
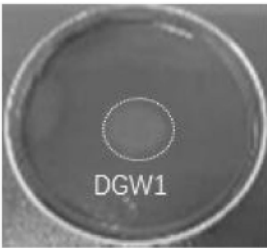
权利要求书1页 说明书8页 附图7页

(54) 发明名称

一种复合菌剂及其在提高香菇菌渣堆肥产品质量的应用

(57) 摘要

本发明提供了一种复合菌剂及其在提高香菇菌渣堆肥产品质量的应用,复合菌剂的活性成分由枯草芽孢杆菌DPPG-26、恶臭假单胞菌SRPG-396、里氏木霉DGW1和氧化微杆菌YD4组成。本发明的复合菌剂中的枯草芽孢杆菌DPPG-26和恶臭假单胞菌SRPG-396均具有较强的溶磷能力,且枯草芽孢杆菌DPPG-26其适宜生长温度较广,可在10-60℃保持较高活性;所述复合菌剂中的里氏木霉DGW1和氧化微杆菌YD4具有较强的纤维素降解能力,且里氏木霉DGW1具有较强的对抗外界有害因子的能力,能够在较宽的pH(4.0-8.0)环境中具有较强的产酶能力。复合菌剂的应用实现了香菇菌渣堆肥快速进入高温期,提高了堆肥温度和腐熟程度,堆肥产品总磷含量、有效磷含量和腐殖质显著增加,种子萌发指数大于215%,有效提升了堆肥产品质量。



1. 一种复合菌剂, 包括, 其特征在于, 所述复合菌剂的活性成分由枯草芽孢杆菌DPPG-26、恶臭假单胞菌SRPG-396、里氏木霉DGW1和氧化微杆菌YD4组成。

所述复合菌剂由浓度不低于 10^9 个/ml的里氏木霉DGW1菌液与浓度不低于 10^9 CFU/ml的枯草芽孢杆菌DPPG-26、恶臭假单胞菌SRPG-396和氧化微杆菌YD4等体积比混合而成; 其中各菌液的浓度相同; 其中:

复合菌剂由以下方法制备得到: 将所述的枯草芽孢杆菌DPPG-26、恶臭假单胞菌SRPG-396、氧化微杆菌YD4分别接种到LB培养基中, 在 30°C 、170rpm下培养48-50h; 将菌株里氏木霉DGW1接种到PDA培养基中, 在 30°C 下培养72-75h, 用蒸馏水反复冲洗培养基, 获得孢子悬液; 用蒸馏水调节浓度, 使细菌浓度在 10^9 CFU/ml以上, 真菌孢子在 10^9 个/ml以上; 然后将四种发酵液按照体积比例0.8-1.2:0.8-1.2:0.8-1.2:0.8-1.2混匀, 得到复合菌剂。

2. 根据权利要求1所述的一种复合菌剂, 其特征在于, 所述枯草芽孢杆菌DPPG-26的保藏号为CGMCCNo. 9393; 所述恶臭假单胞菌SRPG-396的菌种保藏号为CGMCCNo. 9397。

3. 根据权利要求1所述的一种复合菌剂, 其特征在于, 所述里氏木霉DGW1和氧化微杆菌YD4从废弃香菇菌渣筛选得到, 具有高效纤维素降解能力。

4. 一种复合菌剂在提高香菇菌渣堆肥产品质量的应用, 所述复合菌剂应用在香菇菌渣堆肥原料, 其中, 堆肥原料还包括鸡粪、羊粪的一种或多种。

5. 一种复合菌剂用于处理香菇菌渣的方法, 其特征在于, 包括如下步骤:

S1: 将香菇菌渣碾碎至2-3cm, 然后将碾碎后的香菇菌渣与鸡粪或羊粪充分混合形成C/N比为1.8-2.0的均匀混合物, 香菇菌渣与鸡粪或羊粪质量比为2:1.0-2:1.2, 调节混合物中的含水率达到50-60%;

S2: 在混合物中添加复合菌剂, 所述的复合菌剂的添加量为发酵原料质量的1.5-2%, 物料充分混匀后进行发酵;

S3: 采用底部曝气, 堆肥期间前两周每周人工翻堆两次, 之后每周翻动一次, 共发酵25-30天, 得到高质量堆肥产品。

6. 根据权利要求5所述的一种复合菌剂用于处理香菇菌渣的方法, 其特征在于, 复合菌剂的应用实现了香菇菌渣堆肥快速进入高温期, 提高了堆肥温度和腐熟程度, 堆肥产品总磷含量、有效磷含量和腐殖质显著增加, 种子萌发指数大于215%, 有效提升了堆肥产品质量。

一种复合菌剂及其在提高香菇菌渣堆肥产品质量的应用

技术领域

[0001] 本发明属于环境微生物技术领域,涉及一种复合菌剂及其在提高香菇菌渣堆肥产品质量的应用。

背景技术

[0002] 目前我国每年种植香菇产生的废弃菌渣多达400万吨,香菇菌渣若没有得到合理安全的处置,如焚烧、填埋、露天焚烧和在土地上随意堆积等,将导致严重的环境问题。然而香菇菌渣包含大量营养物质,包括多糖、氨基酸、碳氢化合物和微量元素等,完全可以资源化利用。目前已有报道利用菌渣开发为有用产品,比如有机肥料、绿色吸附剂、动物饲料和生物炭等。然而从经济效应和技术可行性考虑,大多菌渣主要用作生产有机肥料,仅有一小部分用于生产其他产品。

[0003] 利用菌渣开发生物有机肥实现资源化利用是经济可持续发展的趋势,但菌渣转化为生物有机肥,往往存在腐殖化程度低、营养含量低等问题。堆肥期间营养物质常被生物稳定化,堆肥中的有效磷常常被转化为中等稳定磷,导致堆肥产品有效磷含量大幅缩减。除此之外,香菇菌渣含有大量木质纤维素,是制约菌渣资源化利用的重要因素之一。目前添加纤维素降解菌的生物处理方法是绿色、经济、有效的,得到普遍应用。但由于废弃菌渣碳氮营养比例失衡、含有大量纤维素,直接添加一般纤维素降解菌难以降解香菇菌渣。

[0004] 然而目前市售的复合菌剂,多数用于秸秆等木质纤维素含量较低的农业废弃物,对于香菇菌渣的降解效果并不显著。除此之外,在提高堆肥产品营养含量的作用大打折扣,限制了植物对堆肥中营养元素的利用效率。所以针对香菇菌渣难降解和其堆肥产品营养含量低等特点,开发高效纤维素降解复合菌剂尤为重要。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种复合菌剂及其在提高香菇菌渣堆肥产品质量的应用,以解决上述背景技术中提出的问题。

[0006] 本发明的目的可通过下列技术方案来实现:

[0007] 一种复合菌剂,其包括保藏号为CGMCC No.9393枯草芽孢杆菌DPPG-26 (*Bacillus subtilis*)、保藏号为CGMCC No.9397恶臭假单胞菌SRPG-396 (*Pseudomonas putida*)、里氏木霉DGW1 (*Trichoderma reesei*) 和氧化微杆菌YD4 (*Microbacterium oxydans*)。

[0008] 菌株DPPG-26具有较强溶磷性能,对无机磷的溶解量为60.58mg/L,此外,菌株DPPG-26具有产嗜铁素、固氮和分泌IAA的能力;菌株SRPG-396也同样具有较强的溶磷性能,对无机磷的溶解量为82.41mg/L,并且具有较强的耐盐能力;菌株DGW1和菌株YD4具有较高的纤维素降解能力,其纤维素酶活分别为112.71U/g和9.74U/g;ITS构建序列的发育树比对结果表明,菌株DGW1和木霉属同源性最高,结合ITS构建序列的发育树比对分析结果和形态学观察,菌株DGW1鉴定为里氏木霉;根据16S rDNA构建序列的发育树比对结果表明,菌株YD4和微杆菌属同源性最高,结合16S rDNA构建序列的发育树比对分析结果和生理生化形

状,菌株YD4鉴定为氧化微杆菌。

[0009] 利用筛选出的高效纤维素降解菌和具有溶磷、耐盐的功能菌株,通过析因设计菌群组合5个,连同商品菌剂对照总共7个处理,测定7个堆肥处理的理化指标及产品营养含量,获得高效复合菌剂,包括枯草芽孢杆菌DPPG-26、恶臭假单胞菌SRPG-396、里氏木霉DGW1和氧化微杆菌YD4。

[0010] 本发明所述的微生物组合在提高香菇菌渣堆肥产品质量中应用。

[0011] 一种复合菌剂,由浓度不低于 10^9 个/ml所述的里氏木霉DGW1菌液和浓度不低于 10^9 CFU/ml所述的枯草芽孢杆菌DPPG-26枯草芽孢杆菌SRPG-26、所述的恶臭假单胞菌SRPG-396和所述的氧化微杆菌YD4菌液等体积比混合而成;其中各菌液浓度相同。

[0012] 所述的复合菌剂,其生理学特征是:

[0013] (1) 菌种有效活菌数高,采用液态方式接种,真菌浓度在 10^9 个/ml以上,细菌浓度在 10^9 CFU/ml以上;

[0014] (2) 枯草芽孢杆菌DPPG-26和恶臭假单胞菌SRPG-396具有较强溶磷能力,里氏木霉DGW1和氧化微杆菌YD4具有较强的纤维素降解能力;

[0015] (3) 复合菌剂包含的菌株对作物无害,对人和动物无致病性。

[0016] 复合菌剂的制备方法为:将所述的枯草芽孢杆菌DPPG-26、恶臭假单胞菌SRPG-396、氧化微杆菌YD4分别接种到LB液体培养基中,在 30°C 、170rpm下培养2天;将菌株里氏木霉DGW1接种到PDA培养基中,在 30°C 下培养3天,用蒸馏水冲洗培养基,获得孢子悬液;待培养结束后,用蒸馏水调节浓度,使细菌浓度在 10^9 CFU/ml以上,真菌孢子在 10^9 个/ml以上;然后将四种发酵液等体积比例混匀,得到所述的复合菌剂。

[0017] 其中,细菌通过OD值计算浓度、真菌用血球计数板计数孢子数量。

[0018] 一种复合菌剂用于提高香菇菌渣堆肥产品质量的方法,其包括如下步骤:

[0019] S1:原料混合:将香菇菌渣碾碎至2-3cm,然后将碾碎后的香菇菌渣与鸡粪充分混合形成C/N比为20的均匀混合物,调节混合物中的含水率达到50-55%,将均匀混合物放置在堆肥泡沫箱中,所述混合物中香菇菌渣与鸡粪质量比为2:1;

[0020] S2:复合菌剂接种:在所述均匀混合物中接种本发明所述的复合菌剂,接种量为发酵原料质量的1.5-2%,物料充分混匀后进行发酵;

[0021] S3:堆肥发酵:采用底部曝气,曝气量为 $0.4\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$,堆肥期间前两周每周人工翻堆两次,之后每周翻动一次,共发酵25-30天,得到高质量堆肥产品。

[0022] 与现有技术相比,本发明一种复合菌剂及其在提高香菇菌渣堆肥产品质量的应用的优点为:复合菌剂中的枯草芽孢杆菌DPPG-26和恶臭假单胞菌SRPG-396均具有较强的溶磷能力,且枯草芽孢杆菌DPPG-26其适宜生长温度较广,可在 $10-60^{\circ}\text{C}$ 保持较高活性;所述复合菌剂中的里氏木霉DGW1和氧化微杆菌YD4具有较强的纤维素降解能力,且里氏木霉DGW1具有较强的对抗外界有害因子的能力,能够在较宽的pH(4.0-8.0)环境中具有较强的产酶能力;

[0023] 本发明的复合菌剂包括枯草芽孢杆菌DPPG-26、恶臭假单胞菌SRPG-396、里氏木霉DGW1和氧化微杆菌YD4,用于较难降解的香菇菌渣的腐熟发酵时具有功能互补且协同作用明显,可显著延长堆肥嗜温期,显著提高堆肥腐殖质含量和有效磷含量。

附图说明

- [0024] 图1:菌株DGW1和菌株YD4刚果红染色水解圈示意图。
- [0025] 图2:菌株DGW1和菌株YD4滤纸崩解试验示意图。
- [0026] 图3:菌株DGW1基于18S rDNA序列同源性构建的系统发育树示意图。
- [0027] 图4:菌株YD4基于16S rDNA序列同源性构建的系统发育树示意图。
- [0028] 图5:菌株DGW1形态:(a) 菌株DGW1形态;(b) 菌株DGW1孢子形态;(c) 菌株DGW1菌丝形态;(d) 扫描电镜菌株DGW1菌丝形态示意图示意图。
- [0029] 图6:堆肥温度变化示意图。
- [0030] 图7堆肥中pH和EC的变化示意图。
- [0031] 图8堆肥过程中E4/E6和GI变化示意图。
- [0032] 图9堆肥末期有机质含量和有效磷含量图。
- [0033] 图10堆肥温度变化示意图。
- [0034] 图11堆肥腐熟指标变化图 (a) TOC, (b) TN, (c) C/N, (d) NH_4^+-N , (e) NO_3^--N , (f) GI。
- [0035] 图12堆肥期间总磷和有效磷的变化图。
- [0036] 图13堆肥过程中不同磷组分含量变化图。
- [0037] 图14堆肥期间腐殖质比较 (a) HS、(b) HA、(c) FA结果柱状图。

具体实施方式

[0038] 以下是本发明的具体实施例并结合附图,对本发明的技术方案作进一步的描述,但本发明并不限于这些实施例。

[0039] 实施例1:高效纤维素降解菌株的筛选

[0040] 使用已灭菌的研钵捣碎10g废弃的菌渣,加入到90mL无菌水中,继续研磨5min,170r/min振荡混匀30min,梯度稀释后,各吸取100 μL 分别均匀涂布于LB培养基、孟加拉红培养基和改良高氏一号培养基,置于28 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养1-7d,观察并记录菌落生长状况。将形态不同且较多的单菌落挑出,多次划线纯化,保藏。

[0041] 从腐烂香菇菌渣筛选出的菌株接种到以羧甲基纤维素钠为唯一碳源的培养基中,挑选出单菌落进行划线分离培养,得到35株具有纤维素降解能力的菌株。经过刚果红染色检测,如图1所示发现菌株DGW1、YD4水解圈相对大且清晰。结合滤纸崩解试验进一步判断菌株的纤维素降解综合能力。滤纸崩解实验结果如图2所示,培养7d后,发现二者均能将滤纸降解至糊状。测定二者酶活进一步判断其纤维素降解能力,结果发现菌株DGW1的滤纸酶活达到112.71U/g,菌株YD4的滤纸酶活达到11.27U/g,确定菌株DGW1、YD4均具有较强的纤维素降解能力。

[0042] 对菌株DGW1、YD4进行分子生物学鉴定。提取菌株DGW1的基因,进行PCR扩增,扩增产物进行琼脂糖电泳。利用BLASTN进行序列相似性比对,对DGW1(图3)、YD4进行分类鉴定(图4)。通过对菌株形态学观察(图5),确定菌株DGW1为里氏木霉,通过对菌株YD4生理生化特征测定(表1),确定菌株YD4为氧化微杆菌。表1菌株YD4生理生化指标

	测试指标	结果	测试指标	结果
[0043]	接触酶	+	麦芽糖	+
	明胶	+	尿素	-
	淀粉	+	蔗糖	+
	柠檬酸盐	+	葡萄糖	+
	靛基质	-	木糖	-
	硫化氢	-	硝酸盐还原	+

[0044] 实施例2:复合菌剂的创制及其在香菇菌渣堆肥的应用

[0045] 本试验共设计7个处理,通过析因设计菌群组合5个,连同商品菌剂对照总共7个处理,具体情况见表2;将各处理初始含水率调整为50-55%,放入堆肥泡沫箱中,堆肥底部曝气,堆肥过程中前两周每周人工翻堆两次,之后每周翻动一次。在堆肥期间测定堆肥温度变化并且取样测定堆肥理化性质变化。

[0046] 购买的商品菌剂包含枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、侧孢芽孢杆菌、植物乳杆菌等纤维素降解菌。

[0047] 表2不同处理的复合菌剂创制及堆肥的接种量应用

	处理	菌剂	接种量(%)
[0048]	CK	蒸馏水	2
	T1	SL-44+Rs-198+YD4	2
	T2	SL-44+Rs-198+DGW1	2
	T3	Rs-198+DGW1+YD4	2
	T4	SL-44+DGW1+YD4	2
	T5	SL-44+Rs-198+YD4+DGW1	2
[0049]	T6	商品菌剂	2

[0050] 堆肥过程结果分析

[0051] 整个堆肥过程中温度的变化如图6所示。CK和T6处理在第3d温度超过55℃(嗜温期),其他接种处理温度均在第2d进入嗜温期。T1和T5的嗜温期保持最长时间(6d),其次是T2、T3和T4(5d),嗜温期最短的是CK(3d)和T6(4d)。其中T1、T2、T3、T4和T5的嗜温期超过5d,满足堆肥无害化标准。除此之外,当堆肥温度低于40℃时,表明堆肥已趋于成熟。在所有处理中,最快进入腐熟期的是T5处理(13d),比起CK时间缩短了2d。因此,可初步判断菌剂组合T5处理能够提高堆肥效率,其具有更长的嗜温期。

[0052] 在堆肥过程中,由于微生物的氨化作用和矿化作用,导致堆肥期间pH的变化。本发明中各项处理的pH值分别从6.42、6.8、6.57、6.75、6.58、6.73和6.33上升到8.02、8.06、8、8.07、8.16、8.13和8.07(图7a)。在堆肥的嗜温期,T5处理和T6处理的pH值上升的更快,这意

味着两种处理具有更高的微生物活性。根据TMECC,2002标准规定,腐熟堆肥pH值的标准应为5.5-8.5,本实施例所有处理的pH值均能满足此要求。

[0053] EC直接反映了堆肥的含盐量及堆肥产品的毒性。当 $EC < 4\text{mS/cm}$ 时,认为堆肥产品是无毒的。堆肥结束时,每个处理的EC下降至3.3、2.8、3.05、2.9、2.95、3.04和3.18(图7b)。这与pH值的变化趋势相反。T5处理中EC含量最低,这说明T5处理在腐熟期会将大量的小链有机酸和各种离子转化为稳定的化合物。因此T5微生物菌剂可以促进堆肥的成熟。

[0054] 堆肥产品中的腐殖质主要包括腐植酸和富里酸。腐植酸和富里酸的光密度之比($E4/E6$)可以反映腐殖质芳香结构的结合程度,表明了腐殖质的水平和堆肥腐熟水平。简而言之,更高的 $E4/E6$ 值意味着更低的堆肥腐熟度。堆肥期间 $E4/E6$ 的变化如图8a所示。所有处理最终的 $E4/E6$ 分别是7.06、6.5、6.22、6.25、7.05、6.15和7.11。接种组的 $E4/E6$ 更低比起CK处理,这表明在堆肥中接种微生物菌剂促进腐殖质形成,提高堆肥腐熟程度。其中T5处理有最低的 $E4/E6$,这意味这T5处理的菌剂组合有效提高堆肥腐熟度。

[0055] 各个处理的GI呈现逐渐上升的趋势(图8b),这表明随着堆肥的进行,堆肥的生物毒性正在逐渐降低。由于堆肥原材料选取干鸡粪和干菌渣,导致堆肥原材料的毒性本身不高,所以GI在堆肥初期均超过80%。T5处理的GI在堆肥末期达到最高为215,这表明T5处理接种的微生物菌剂促进堆肥腐熟并减少堆肥毒性。

[0056] 图9a显示堆肥末期有机质含量,T5处理的有机质含量显著低于其他处理。T5处理的菌剂组合的有机质损失率是最大的,表明堆肥期间微生物利用有机质进行活跃的生长和繁殖,这也间接说明了T5处理能够延长堆肥嗜温期(图9a)。当堆肥的有机质含量下降至60%时,可认为堆肥的不稳定有机物已完全降解,最终堆肥成熟且稳定。因此,在本试验中所有处理均可认定为已达到腐熟。

[0057] 由于T5处理的菌剂组合导致了最高的有机质降解率,所以T5水平的有效磷含量也随之最高(图9b)。接种微生物菌剂处理的有效磷含量显著高于对照组,这可能是由于微生物菌剂与土著微生物菌群之间可能存在一定的协同作用,能更好的发挥磷的释放作用。

[0058] 实施例3复合菌剂的堆肥处理应用

[0059] 本试验共设计2个处理,进一步验证复合菌剂提升香菇菌渣堆肥应用效果,设计SL-44+Rs-198+YD4+DGW1复合菌剂(CMA)和商品菌剂(CK)总共2个处理;用蒸馏水调节浓度,使细菌浓度在 10^9CFU/ml 以上,真菌孢子在 10^9 个/ml以上;然后将四种发酵液按照体积比例0.8:1.2:0.8:1.2混匀,得到复合菌剂。

[0060] 菌渣原料设计:将香菇菌渣碾碎至2-3cm,然后将碾碎后的香菇菌渣与羊粪充分混合形成C/N比为20的均匀混合物,调节混合物中的含水率达到55-60%,将均匀混合物放置在堆肥泡沫箱中,所述混合物中香菇菌渣与羊粪质量比为2:1.2。

[0061] 复合菌剂接种:在所述均匀混合物中接种本发明所述的复合菌剂,接种量为发酵原料质量的1.5%,物料充分混匀后进行发酵。

[0062] 堆肥发酵:采用底部曝气,曝气量为 $0.4\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$,堆肥期间前两周每周人工翻堆两次,之后每周翻动一次,共发酵25-30天,得到高质量堆肥产品。分别在堆肥期间第0、1、5、20、30天采用四分法进行取样,在测定堆肥温度变化堆肥理化性质变化。

[0063] 堆肥过程各指标结果分析

[0064] 堆肥过程持续进行30d后堆肥温度接近于室温。CK处理和CMA处理均能在第1d进入

嗜温期 ($>55^{\circ}\text{C}$) ,但相比于CK处理 (61°C) ,CMA处理可以在第6d达到更高的温度水平 (66°C) 。此外,两种处理均能在高温 ($>55^{\circ}\text{C}$) 下维持13d。在嗜热期间,大量的致病菌和有毒物质被灭活,有机物迅速分解。随后堆体的温度不断下降,表明堆肥逐渐成熟。当堆体温度趋于室温时,表明堆体微生物基本停止降解活动,堆肥趋于成熟。

[0065] 如表3所示,随着堆肥的进行,两种处理的含水率均不断减小。在堆肥嗜温期时,由于堆肥微生物的新陈代谢,产生大量的热,造成堆体的水分大量蒸发。但是CMA处理的含水率显著低于CK处理,这是由于CMA处理具有更高的温度,且嗜温期长于CK处理。在堆肥的成熟期和冷却期时,堆肥温度趋于室温,堆体内的含水率趋于平稳。

[0066] 随着堆肥的进行,CK和CMA处理的pH呈现弱碱的变化范围,分别是6.92-8.40和7.06-8.23(表3)。在堆肥期间两种处理的pH值不断升高,堆肥11d后,堆肥pH值上升速度明显减缓,这可能是由于堆肥中有机酸的生成。堆肥初期,CMA处理的堆肥pH值高于CK处理,这可能是由于接种液在培养过程中为碱性状态,从而提高堆肥初期pH值。在堆肥末期,CMA处理的pH值低于CK处理,可能是由于复合菌剂的接种,促进堆肥生境内微生物对有机酸的分泌。

[0067] CK处理和CMA处理的电导率(EC)在1.40-2.212范围内不断波动(表3),并且两种处理的最终EC都达到安全标准要求 ($<4\text{mS/cm}$) 。

[0068] 表3堆肥中理化参数的变化

	时间	处理	含水率	pH	电导率
			(%)		(mS/cm)
[0069]	0 d	CK	60.00	6.92	1.70
		CMA	60.00	7.06	1.47
	1 d	CK	56.48	6.97	1.43
		CMA	56.33	7.18	1.40
	6 d	CK	55.29	7.12	1.65
		CMA	53.03	7.38	1.78
	11d	CK	53.85	7.88	1.48
		CMA	48.43	8.02	2.16
	19 d	CK	48.37	7.88	1.88
		CMA	46.25	7.69	1.53
	24 d	CK	47.36	7.83	1.68
		CMA	42.45	7.98	2.21
	30 d	CK	45.16	8.40	1.63
		CMA	41.89	8.23	1.96

[0070] 图11a显示堆肥期间总有机碳(TOC)的变化。在堆肥嗜温期时,TOC含量显著下降。堆肥30d后,相比较CK处理,CMA处理的TOC含量更低,这可能是因为该处理具有更高的微生

物活性。

[0071] 堆肥期间CK和CMA处理的总氮(TN)逐渐升高,但堆肥过程中一部分氮以氨气的形式排出堆体外(图11b)。并且两种处理的总氮变化有着类似的结果。在堆肥结束时,CMA处理的总氮含量显著高于CK处理,这说明复合菌剂的接种将会减少堆肥中氮的损失。

[0072] C/N是堆肥中重要的指标,可以反映堆肥腐熟度。如图11c所示,堆肥期间C/N逐渐降低,那可能是由于堆肥过程中有机碳矿化率高于有机氮的结果。根据以前的报道,堆肥末期C/N在10-15,可以认为堆肥已腐熟。因此,两种处理均已完全腐熟。

[0073] 如图11d所示,在整个堆肥过程中,两种处理的 NH_4^+ -N含量呈现先上升后下降的趋势。通过氨化作用产生氨气随后溶于水中,从而提高堆肥 NH_4^+ -N含量。随着氨气的挥发和 NH_4^+ -N转化为 NO_3^- -N,堆肥中的 NH_4^+ -N含量开始下降。在进入冷却期时, NH_4^+ -N含量趋于稳定。 NH_4^+ -N含量在成熟后期相对稳定。与CK处理相比,CMA处理整体 NH_4^+ -N含量更高,这是由于更高的温度和pH有利于氨化作用。

[0074] 图11e显示堆肥期间 NO_3^- -N含量的变化,在整个堆肥过程中 NO_3^- -N含量呈现逐渐上升的趋势。堆肥前期 NO_3^- -N含量增加较为缓慢,嗜温期结束后,硝化微生物大量繁殖,堆肥中的 NH_4^+ -N转化为 NO_3^- -N,导致堆肥中 NO_3^- -N含量逐渐增加,这表明堆肥正在逐步成熟。在堆肥结束时,CMA处理的 NO_3^- -N含量高于CK处理,这可能是因为复合菌剂的接种促进了硝化菌的生长和代谢。由此可见,混合菌剂的接种能够有效提高堆肥产品质量。

[0075] 两种处理的GI在整个堆肥过程中呈现上升的趋势(图11f)。同时,在堆肥末期两种处理的GI均超过200%,能够满足堆肥腐熟标准(>80%)。除此之外,CMA处理的种子萌发率显著高于CK处理,说明复合菌剂的接种将提高堆肥腐熟度,这可能与提高了堆肥中微生物的代谢活性和微生物之间的积极相互作用有关。

[0076] 如图12a所示,与堆肥初期相比,在CK处理和CMA处理最终的总磷浓度分别增加了27.02%和33.15%,由此可见复合菌剂的接种提高了堆肥末期产品的总磷含量。在整个堆肥过程中,两种处理的有效磷含量不断增加,但是CMA处理的有效磷浓度(Olsen-P)显著高于CK处理(图12b)。复合菌剂通过提高微生物间的相互作用,间接影响堆肥磷组分含量。

[0077] 不同提取液对磷进行顺序提取,反映了堆肥过程中不稳定磷、较不稳定磷、较稳定磷和稳定磷的变化,这也反映了复合菌剂对堆肥过程中无机磷的增溶程度。图13展示了堆肥期间不同磷组分的分布。堆肥期间,除 HCl-P_o 外,CK处理和CMA处理的其他磷组分均有所增加,那可能是由于浓度效应和有机物质的降解。有效磷包括堆肥中的 $\text{H}_2\text{O-P}$ 和 $\text{NaHCO}_3\text{-P}$,相比于CK处理,在堆肥末期CMA处理分别提高了0.29%和1.5%。 HCl-P 作为磷组分中最不稳定P,发现CK处理在堆肥末期高于CMA处理,这意味着复合菌剂的添加有利于稳定磷转化为有效磷。并且CMA处理的残留磷整体高于CK处理。

[0078] 腐殖化是将有机物转化为腐殖质(HS)的过程,也是堆肥固碳的关键步骤,其直接影响堆肥的肥力和稳定性。在菌渣堆肥过程中,CMA处理和CK处理的HS分别从120.18g/kg缩减到114.18g/kg和从118.16g/kg缩减到104.17g/kg(图14a)。值得注意的是,堆肥末期CMA处理的HS含量显著高于CK处理

[0079] 腐植酸(HA)是HS中分子量大、稳定性高的物质,含有羧基、酚羟基等多种官能团。随着堆肥的进行,两种处理的HA逐渐上升(图14b)。堆肥末期,CMA处理和CK处理的HA分别上升到34.37%和31.86%,这意味CMA处理具有更高的微生物活性,微生物合成大量稳定的HA

分子。

[0080] 富里酸 (FA) 具有分子量小、活性高和氧化程度高等特点,这也就意味着相比较HA,堆肥中产生的FA更易被微生物代谢吸收。所以在堆肥过程中,两种处理的FA不断下降(图14c)。在堆肥末期CMA处理的FA略高于CK处理,但CMA菌剂的接种对FA含量没有显著影响。

[0081] 本说明书中未作详细描述的内容属于本领域专业技术人员公知的现有技术。本文中所描述的具体实施例仅仅是对本发明精神作举例说明。本发明所属技术领域的技术人员可以对所描述的具体实施例作各种各样的修改或补充或采用类似的方式替代,但并不会偏离本发明的精神或者超越所附权利要求书所定义的范围。

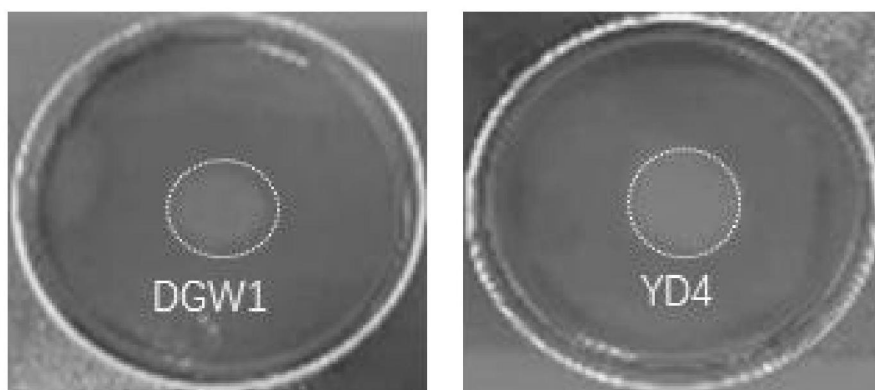


图1



图2

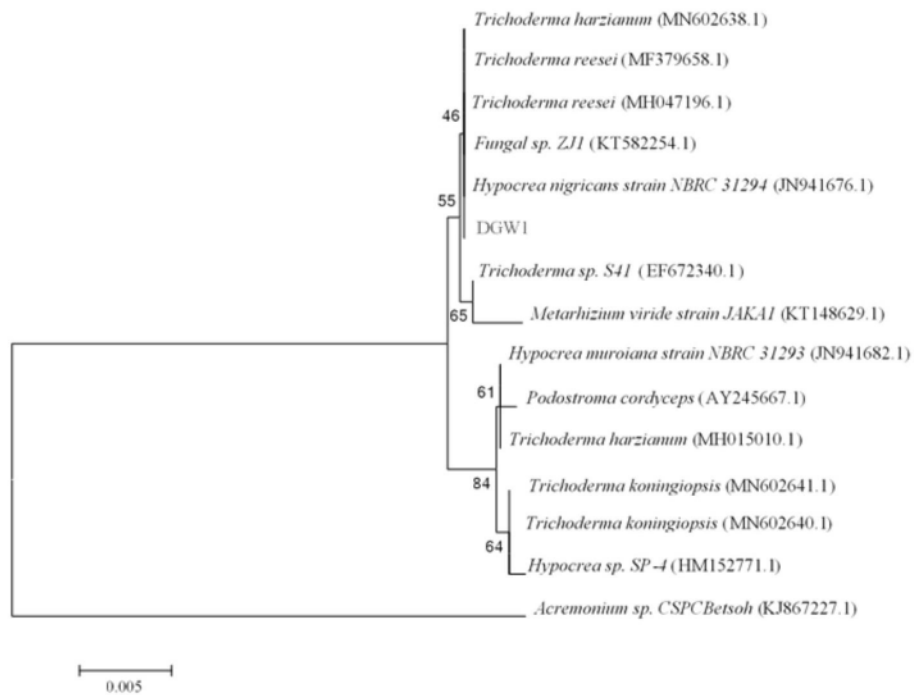


图3

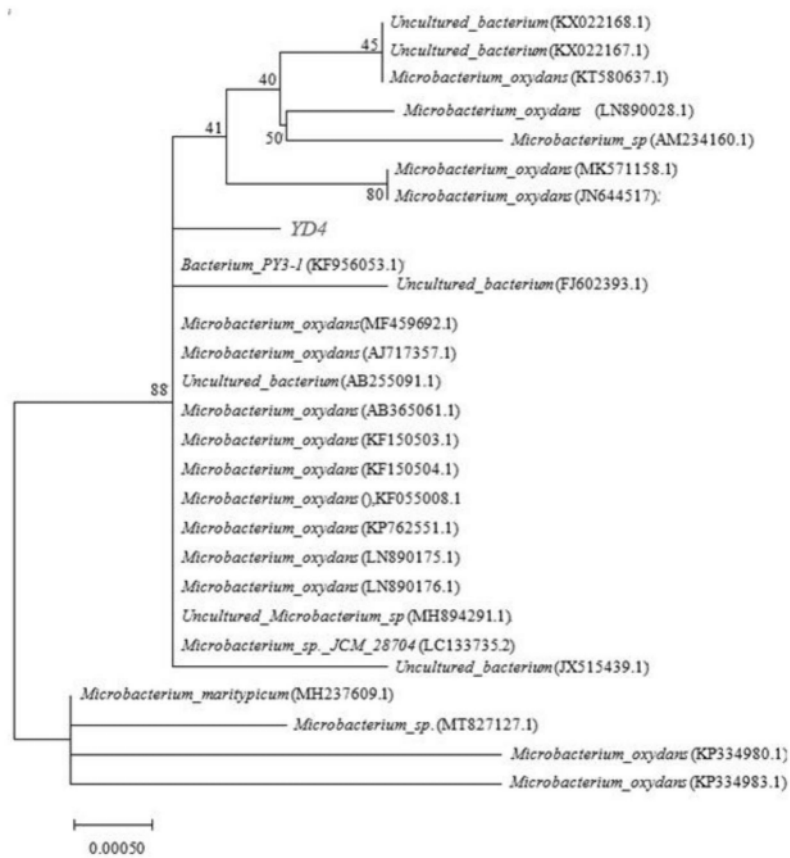


图4

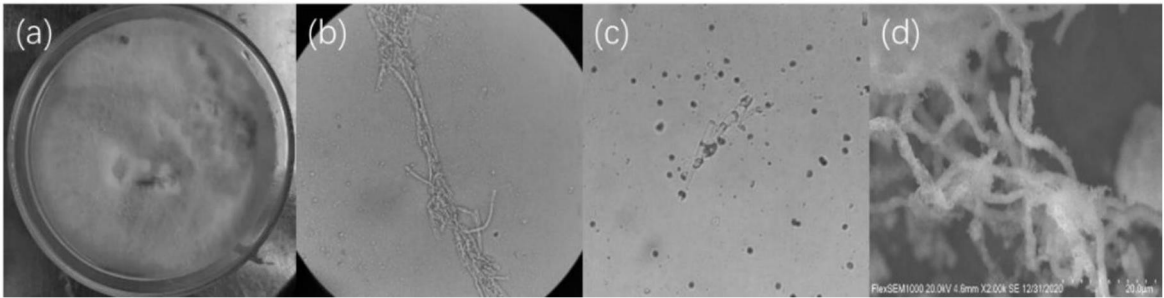


图5

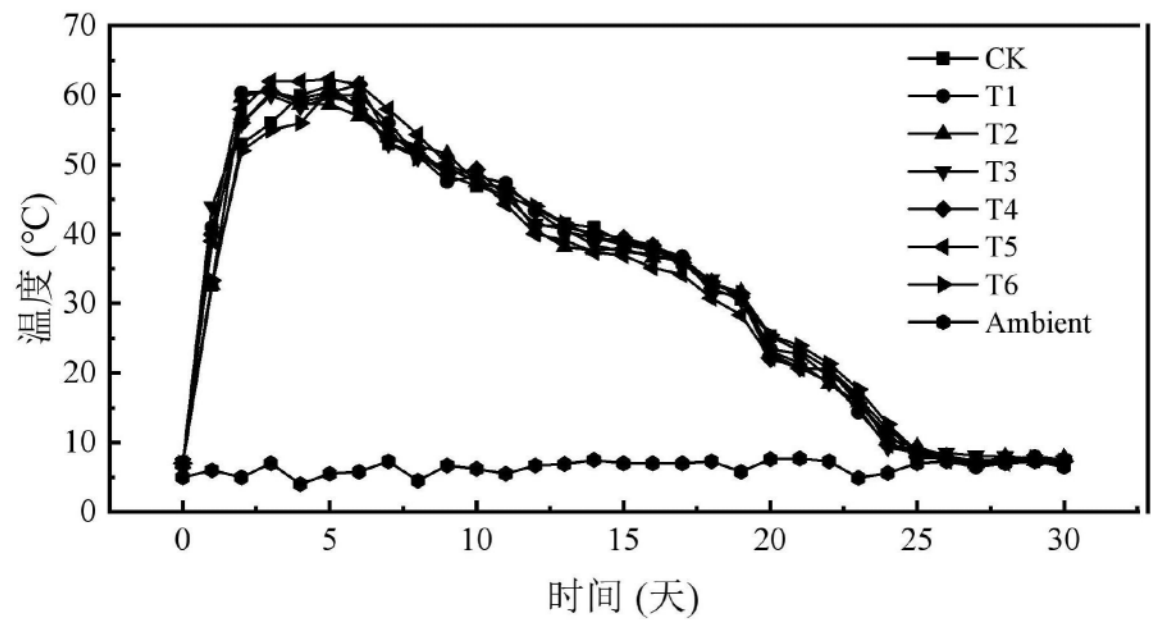


图6

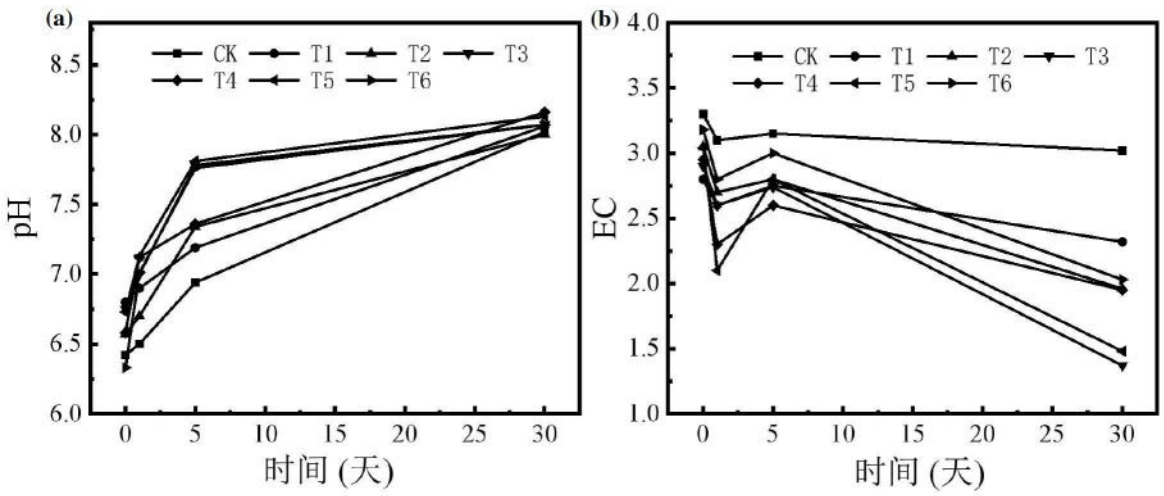


图7

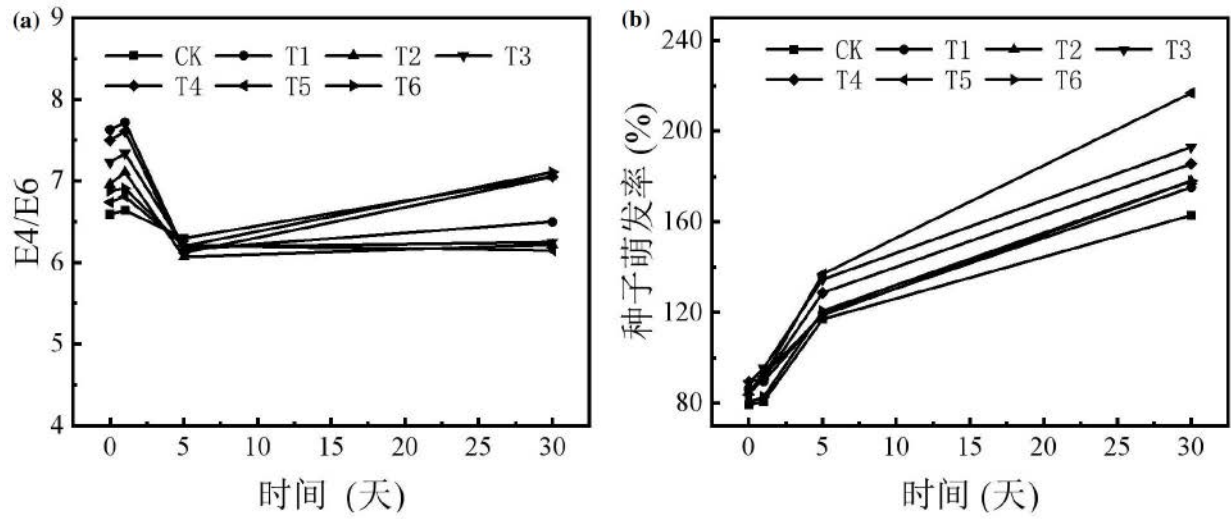


图8

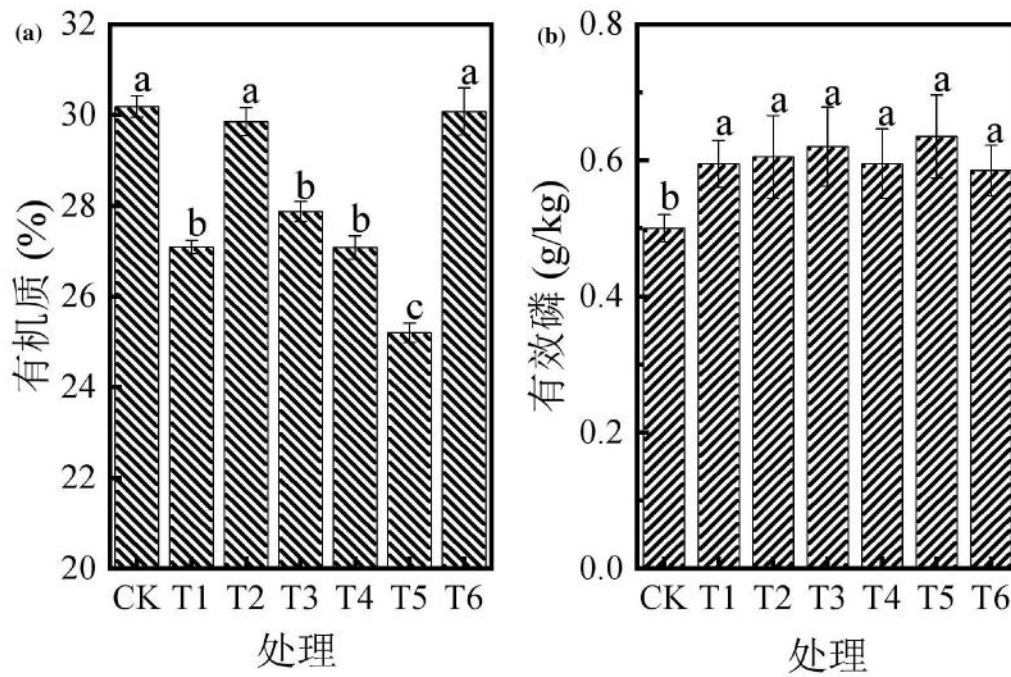


图9

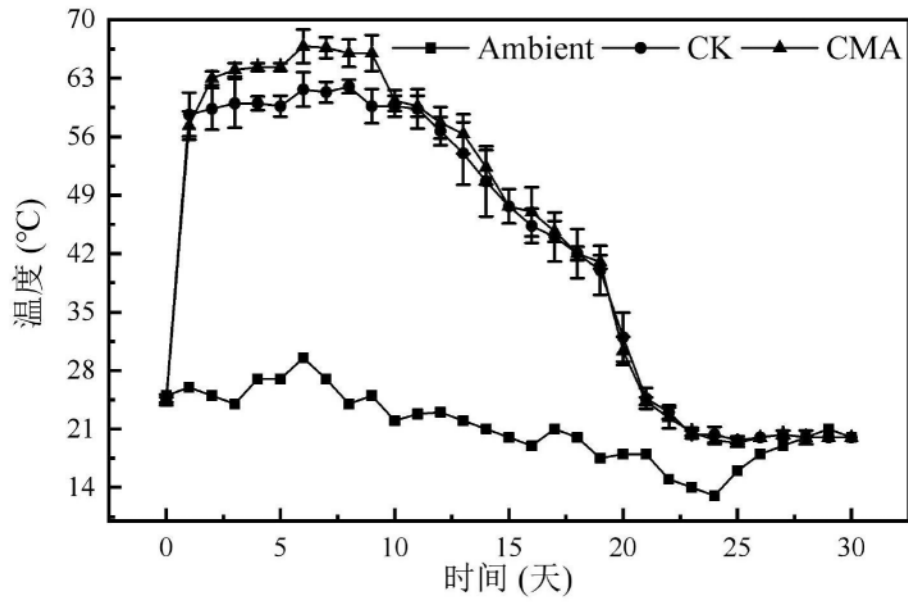


图10

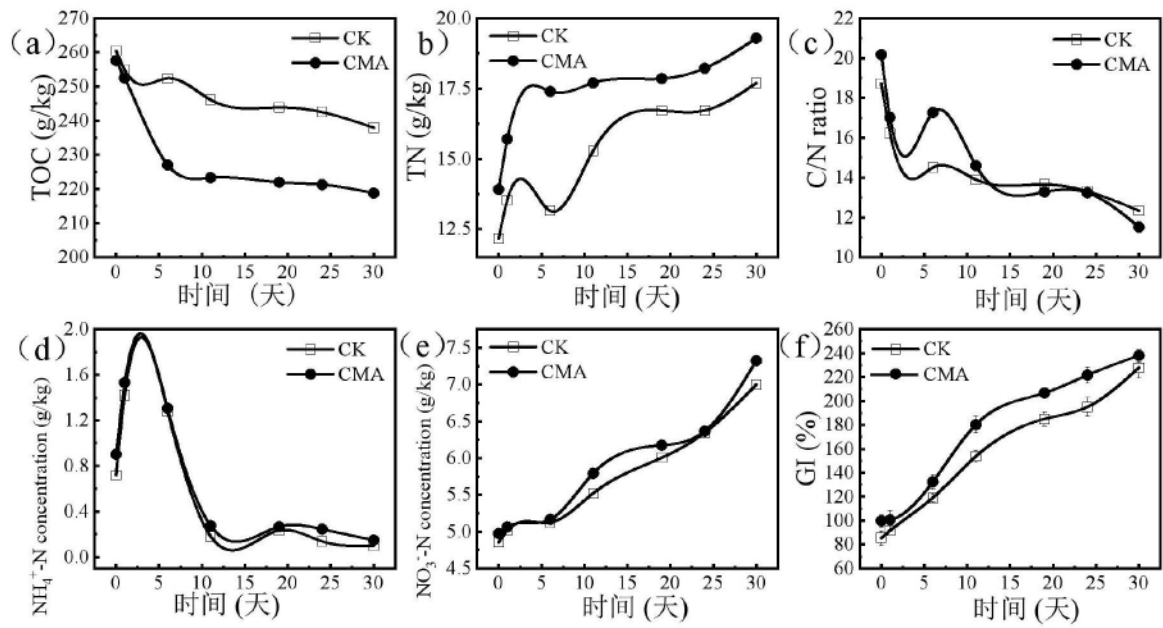


图11

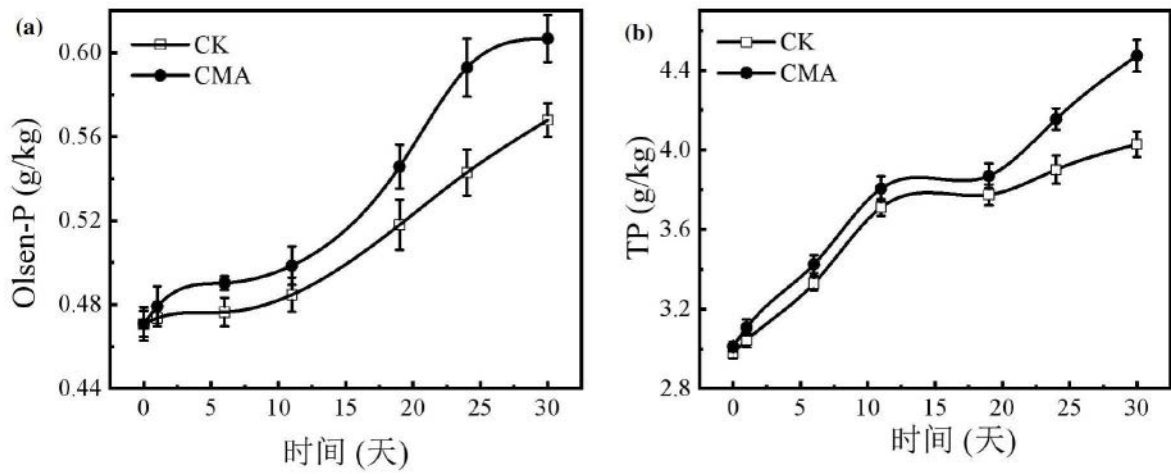


图12

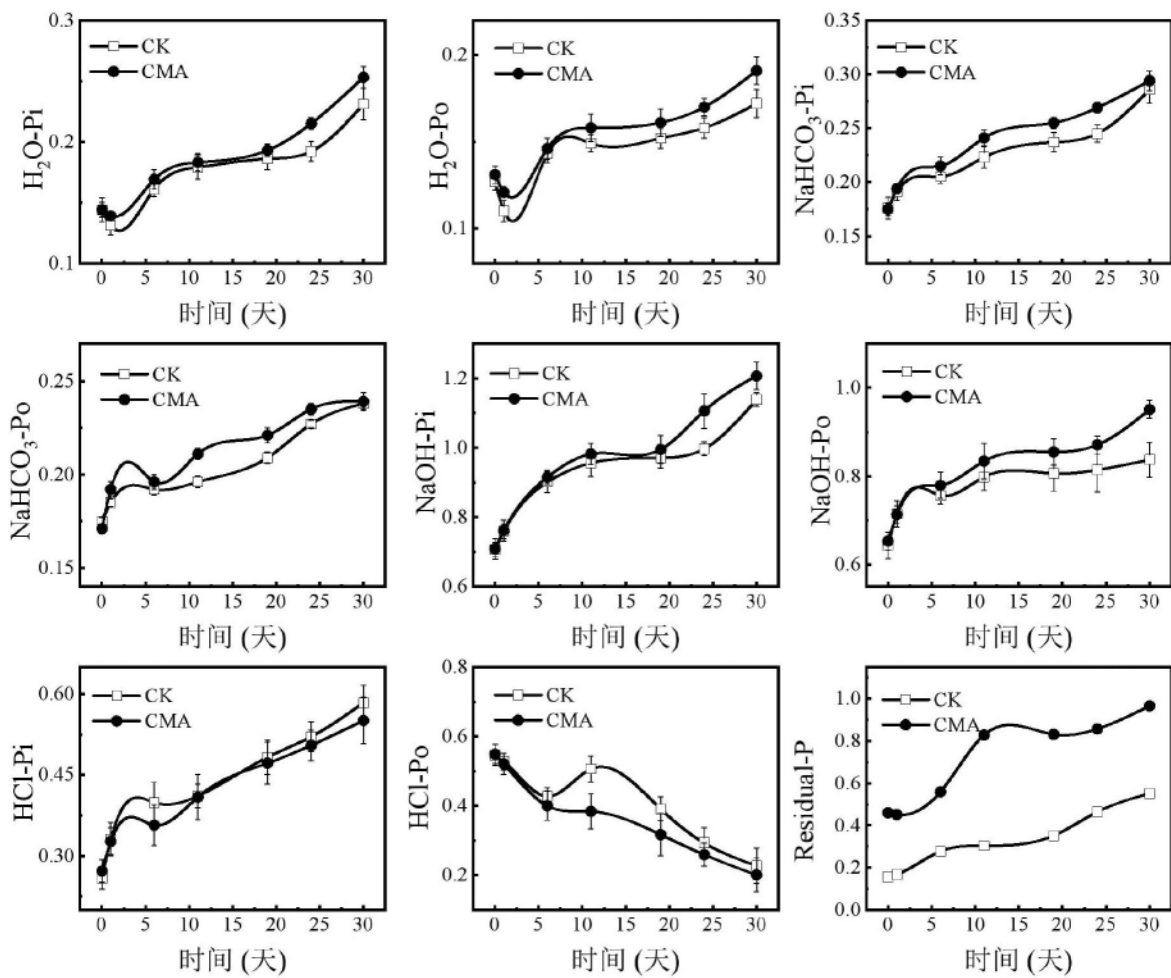


图13

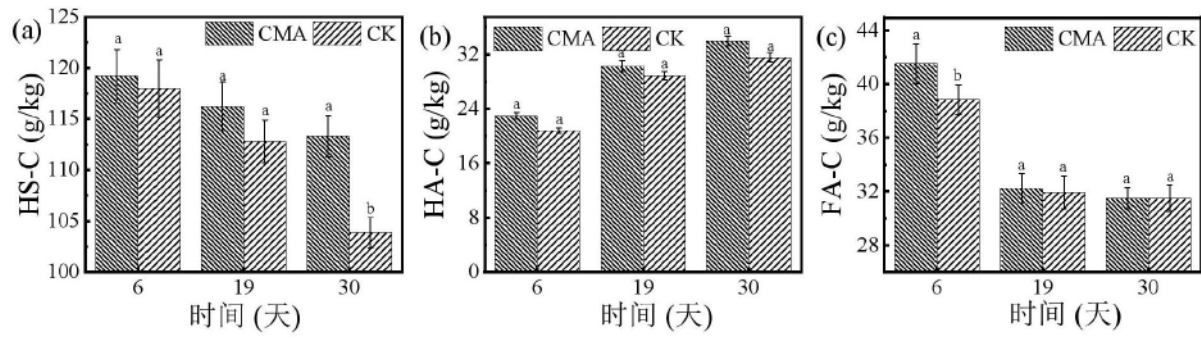


图14