

微生物生理群在猪粪秸秆高温堆肥 碳氮转化中的作用

刘学玲 黄懿梅* 姜继韶 黄 华

(西北农林科技大学资源环境学院, 杨凌 712100)

摘要 在自制的强制通风静态堆肥反应箱中,猪粪与秸秆以鲜重7:1的比例进行了堆肥化实验,在堆制的23 d里根据堆温变化分阶段采集堆肥样品,利用MPN法测定了堆料中纤维素分解菌和氮素微生物生理群的数量变化,同时测定了相应的碳、氮含量。结果表明,纤维素分解菌在稳定腐熟阶段较多,对于后期有机碳的降解和腐殖质含量的增大起了很大的作用,在堆制的23 d里,腐殖质增加了2.4%。整个堆制过程中,氨化细菌的数量最大且与氨气释放浓度和铵态氮含量呈显著正相关,都在高温期增加,降温期后减少,氨化细菌的数量在高温期的增加率远高于降温期后的减少率,而铵态氮在高温期的增加率远低于在降温后期的减少率,铵态氮总体上减少了74.1%;亚硝化细菌数量与硝态氮呈正相关;反硝化细菌数量在降温期上升幅度较大,堆制结束时为堆制初期的13倍,且与堆肥中硝态氮含量呈正相关;硝态氮含量增加了87.5%;堆肥后期硝态氮的增加可能与堆肥中存在能进行硝化作用的反硝化细菌有关。固氮菌数量在堆制结束时达堆制初期的2.61倍,主要在降温期增加较多,对堆肥中有机氮的形成起很大作用。

关键词 猪粪 高温堆肥 微生物生理群 碳素 氮素

中图分类号 X705 文献标识码 A 文章编号 1673-9108(2012)05-1713-08

Function of microbial physiological group in carbon and nitrogen transformation during a swine manure-straw compost

Liu Xueling Huang Yimei¹ Jiang Jishao Huang Hua

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

Abstract Fresh swine manure and wheat straw were mixed at a 7:1 ratio and then composted in a self-built, static forced-air composting box (90 L). During the period of 23 days, temperature was monitored every day and compost samples were taken at 0, 4, 17, and 23 d after the start of the experiment. The amounts of cellulose-decomposing microorganism, ammonifiers, nitrifiers, denitrifiers, nitrogen-fixing bacteria were determined with the method of MPN and the concentrations of water-soluble organic carbon, organic carbon, humics, ammonium (NH_4^+ -N), nitrate (NO_3^- -N), organic N (Org-N) and NH_3 were also measured. The results indicated that cellulose-decomposing microbes increased significantly at the stable compost stage and played a significant role in the degradation of carbon and the increase of humics acid. During the period of 23 days, the humics acid concentration increased by 2.4%. Ammonifiers had the greatest amount during the period of 23 days and had a significant positive correlation with the concentrations of NH_4^+ -N and NH_3 . They all increased at the high temperature period and decreased at the cooling stage of composting. The ammonifiers amount increasing rate at the thermophilic period was much higher than its reducing rate at the cooling period, while the NH_4^+ -N contents showed the opposite trend and the NH_4^+ -N concentration decreased by 74.1% during the composting. The amount of nitrifying bacteria and denitrifiers all had positive correlation with NO_3^- -N contents during the composting. The denitrifiers increased significantly at the cooling composting stage and its amount after cooling stage was 13 times higher than its at the initial stage. The NO_3^- -N concentration increased by 87.5% after composting. The reason of NO_3^- -N concentration increase might be partly explained by the relation with nitrification of denitrifiers. The azotobacter amounts increased 2.61 times during the composting, which had a significant increase in the cooling stage and it played an important role in the forming of org-N.

Key words pig manure; aerobic composting; microbial physiological group; carbon; nitrogen

堆肥化是一个由大量不同的嗜中温、耐热和嗜热的好氧微生物群落不断演替的生物氧化过程^[1-3]。微生物是堆肥化过程中降解有机质的主体。微生物生理群是指具有相同或不同形态,执行同一

基金项目:陕西省社会发展攻关项目(2010K11-02-09)

收稿日期:2011-07-06; 修订日期:2011-08-16

作者简介:刘学玲(1985~),女,硕士研究生,主要从事固体废物处理方面的研究。E-mail:lxl_bhu@126.com

* 通讯联系人, E-mail: ymhuang1971@nwsuaf.edu.cn

种功能的一类微生物,其中氨化细菌、硝化细菌、固氮细菌和反硝化细菌在氮素转化中发挥着重要作用,称为氮素生理群^[4]。氮素生理群参与堆肥中的主要氮素循环过程:氨化作用、硝化作用、反硝化作用、无机氮固定作用等,使堆肥中各种氮素形态:铵态氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$)、亚硝态氮、硝态氮($\text{NO}_3^- - \text{N}$)和有机氮(Org-N)^[5]等发生变化,从而影响到堆肥化中的氮素损失与堆肥质量。纤维素分解菌可以将纤维素分解成部分糖类物质、半纤维素及果胶等物质,是纤维素降解的主要微生物,属于碳素生理类群^[6]。其活动将影响到堆肥中有机碳、水溶性有机碳和腐殖质等的含量,从而影响到堆肥化的进程和质量。微生物种群的生长繁殖是变化波动的,与发酵时间有着特殊的定量关系。堆肥化中的物质转化是由这些氮素生理群和纤维素分解菌等微生物共同完成的^[7]。所以,研究微生物生理群的变化有助于了解堆肥中碳氮转化的微生物机理。我们以前的研究探讨了牛粪高温堆肥过程中氮素形态和氮素微生物生理群的相互关系^[8]。尽管国内外关于猪粪堆肥过程中氮素、碳素组成变化的报道较多^[9-11],但是关于猪粪高温堆肥化中微生物生理群的变化及其对碳、氮转化的作用仍不清楚。因此,本实验拟在自制的强制通风静态堆肥反应箱中研究猪粪和麦秆高温堆肥化中的微生物生理群(纤维素分解菌、氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌和固氮菌)及相应的碳、氮含量的动态变化,为阐述堆肥化中的物质转化的微生物机理提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 堆制材料与装置

新鲜猪粪采自于西北农林科技大学生态养殖场;小麦秸秆来自陕西杨凌农田,破碎成3~5 cm左右。堆肥原料的基本性状如表1所示。

表1 堆肥原材料基本性状

Table 1 Properties of composting materials

堆制原料	有机碳(g/kg)	全氮(g/kg)	含水率(%)	C/N
猪粪	359.0 ± 0.7	27.9 ± 0.7	70.9	12.8
秸秆	419.6 ± 0.5	5.0 ± 0.6	14.5	83.3

堆肥装置为自制的强制通风静态堆肥反应箱如图1所示,由密闭反应箱、保温层、筛板、支架、空气泵、通气管、缓冲瓶和温度检测仪等组成,反应箱容积约为90 L,将8 cm厚的塑料泡沫保温层(无加热

功能,只有保温效果)紧贴在反应箱外,夜晚环境温度低时,将电热毯(30~40℃)敷盖在保温层外侧,两者共同防止堆体热量散失。

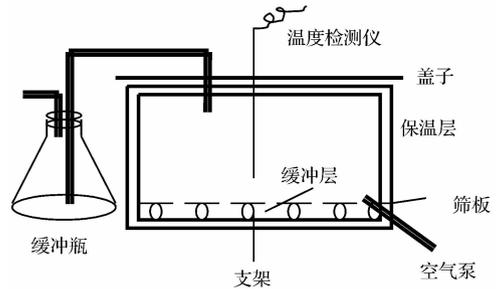


图1 自制强制通风静态堆肥反应箱示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the automatic aerobic compost device

1.2 堆制与采样方法

将猪粪与秸秆以鲜重比为7:1,总量为25 kg左右,水分控制在65%左右,充分混匀后置于自制强制通风静态堆肥反应箱中。堆制期间,每天上午、下午测定堆温,取平均值作为当天的堆温;每天上午、下午以约60 L/min的流量从底部筛板向堆肥均匀通风30 min,直到堆肥温度降至40℃以下,停止通气。根据堆温变化共堆制23 d,并分别于0、4、17和23 d搅拌均匀后取样,取样前后称取反应箱重量。样品总量控制在500 g左右,其中200 g用塑封袋保存在4℃冰箱中,用于碳素、氮素相关微生物生理群、水分的测定和水浸提液提取,测定前取出恢复至室温。其余风干粉碎后,过1 mm筛存储备用。

1.3 测定项目及方法

氨气:以0.05 mol/L的硫酸溶液作为吸收液,大气采样器采气,纳氏试剂比色测定;堆肥水浸提液制备:按鲜样:蒸馏水为1:10的体积比振荡30 min后,12 000 r/min离心10 min,然后用0.45 μm滤膜过滤,滤液用塑料小瓶在4℃贮存备用。pH用Delta320 pH计测定,水溶性铵态氮用纳氏试剂比色法测定(GB7479-1987)^[12],硝态氮用紫外分光光度法测定^[13];凯氏氮用 $\text{H}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ 消解蒸馏滴定法测定;腐殖质采用焦磷酸钠浸提- $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 容量法测定^[14];有机碳用重铬酸钾外加热法测定^[15];水溶性有机碳用Phoenix8000 TOC仪测定,氨化细菌、亚硝化细菌、反硝化细菌、固氮菌、纤维素分解菌的数量采用最大可能计数法(MPN)测定(表2)^[16]。

表 2 微生物生理群 MPN 计数法

Table 2 MPN methods of microbe physiological group

微生物种类	培养基	稀释度	培养时间(d)	主要检查方法
氨化细菌	蛋白胨氨化培养基	$10^{-6} \sim 10^{-13}$	7	加纳氏试剂后出现棕黄色或褐色
亚硝化细菌	铵盐培养基	$10^{-2} \sim 10^{-8}$	14	加入格里斯试剂 I II 后出现绛红色,加二苯胺试剂出现蓝色
反硝化细菌	反硝化细菌培养基	$10^{-2} \sim 10^{-7}$	14	有气体,加格里斯试剂试剂 I II 出现红色,加浓硫酸及二苯胺试剂出现蓝色
自生固氮菌	阿须贝无氮培养基	$10^{-1} \sim 10^{-7}$	7~14	液面或与滤纸接触处是否有褐色或黏液状菌膜生成
纤维素分解菌	赫奇逊噬纤维培养基	$10^{-1} \sim 10^{-6}$	14	根据试管中滤纸条上有无黄色或橘黄色菌斑出现及滤纸条断裂情况

2 结果与分析

2.1 堆肥化中堆温与 pH 值的变化

堆温主要经历了 3 个阶段(图 2):高温阶段(2~12 d),降温阶段(13~17 d),稳定阶段(18~23 d)。堆制后第 2 天就进入高温阶段(60.1℃),在第 4 d 时温度达到最高(63℃),高温持续 12 d 以后堆体温度开始迅速下降,第 13 天时下降至 32℃,之后温度又有所升高,到第 16 天时,温度有一小峰值,之后温度下降并趋于环境温度进入稳定阶段。在 23 d 的堆肥过程中,堆体温度保持 55℃ 以上持续了 9 d,达到了粪便无害化卫生标准(GB79592-1987)^[17]。

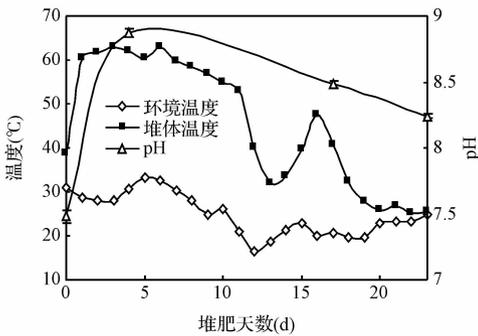


图 2 堆肥温度和 pH 的变化

Fig. 2 Changes of temperature and pH during composting

堆肥初期 pH 值迅速上升,从初始的 7.48 上升至第 4 天的最高值 8.87,升高了 18.6%,随后 pH 逐渐下降,降温期和稳定期分别降低了 4.4% 和 2.8%,至第 23 天时降至 8.24。

2.2 堆肥化中主要微生物生理群的变化

整个堆肥过程中氨化细菌的数量最大,比亚硝化细菌、反硝化细菌、固氮菌和纤维素分解菌均高出

几个数量级(表 3)。氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌、固氮菌、纤维素分解菌的平均数分别为 5.16×10^{10} 、 5.62×10^5 、 1.10×10^6 、 7.66×10^4 和 3.18×10^2 cfu/g。

氨化细菌可以参加氨化作用,将堆肥中有机氮化合物转化为氨态氮^[6]。堆肥化中氨化细菌数量从初期到高温期处于上升趋势,并且上升幅度高达 268.3%,在第 4 天出现最大值 11.6×10^{10} cfu/g。进入降温期、稳定期后逐渐下降,第 23 天堆制结束时数量达到最低,比堆肥初期减少 1 个数量级。

亚硝化细菌平均数量整体变化平缓,从堆肥初期到降温期处于缓慢上升趋势,降温期的上升幅度大一些达到 42%,并在在降温期的第 17 天出现最大值 7.74×10^5 cfu/g,稳定期亚硝化细菌数量下降,下降幅度为 35.7%。

反硝化细菌数量随着堆肥的进行呈上升趋势(表 3),但是从初期到高温期其数目几乎未变,到了降温期大幅度增加,并且反硝化细菌最大值高达 3.61×10^6 cfu/g(表 3),进入稳定期其数量开始下降,但是其最终的数目也远远高于开始值,至第 23 天堆制结束时其数量达堆制初期的 13 倍。

固氮菌数量呈现降-升-降的趋势(表 3),降温期处于上升趋势,增加幅度较大,较前期增加了 227.7%。虽在稳定期有个降低幅度为 3.5% 的降低过程,但堆制结束时固氮菌数量还是达堆制初期的 2.61 倍,即固氮菌平均数量总体上是增加的。

纤维素分解菌整体数量较小,但整体呈现上升趋势并且在堆肥进入降温期以后上升幅度较大,高达 456%,并在稳定期的第 17 天出现最大值 0.95×10^3 cfu/g。

表3 堆肥不同时期氮素和碳素相关微生物类群的变化情况

Table 3 Changes of microbes related to nitrogen and carbon at different stages during composting

氮素循环微生物类群	初期(1 d)	高温期(2~12 d)		降温期(13~17 d)		稳定期(18~23 d)	
		含量(g/kg)	变化率(%)	含量(g/kg)	变化率(%)	含量(g/kg)	变化率(%)
氨化细菌($\times 10^{10}$ cfu/g)	3.15	11.60	268.3	4.15	-64.2	1.73	-85.1
亚硝化细菌($\times 10^5$ cfu/g)	4.29	5.45	27.0	7.74	42.0	4.98	-35.7
反硝化细菌($\times 10^4$ cfu/g)	5.72	5.72	0	361	6211	74.50	-79.4
固氮细菌($\times 10^4$ cfu/g)	4.29	3.54	-17.5	11.6	227.7	11.20	-3.5
纤维素分解菌($\times 10$ cfu/g)	2.50	4.50	80	25	456	95	280

2.3 堆肥化中碳氮组分的变化

2.3.1 堆肥中水溶性有机碳、腐殖质和有机碳的变化

堆肥开始时,有机碳分解转化为水溶性有机碳,随着分解的进行水溶性有机碳为微生物提供最直接的碳源^[18]。本实验堆肥初期水溶性有机碳的含量为77.9 g/kg,进入高温期其含量大幅度增加(表4),并在高温期达到最大值167.5 g/kg,降温期以后开始缓慢下降,堆制结束时其含量降至50.2 g/kg,与堆制初期相比下降35.6%。

堆制初期,腐殖质含量为180 g/kg,高温期有所下降,降温期显著增加,但稳定期又略有下降。在降温期的上升幅度较大(表4),第17天达到最大值191.3 g/kg,与高温期相比增加了24.2%。由于稳定期略有下降,所以,整个堆制期间,总体上增加了2.4%。

堆肥初期,堆料中的有机碳含量为370.80 g/kg,堆制过程中随着有机物质的降解,有机碳含量逐渐下降,在降温期的降低幅度大一些,(表4),堆肥

结束时有机碳含量为334.40 g/kg,与堆制初期相比降低了9.82%。

相关分析表明,水溶性有机碳、有机碳均与温度、pH呈正相关关系,而腐殖质则与温度、pH呈负相关关系。

2.3.2 堆肥中铵态氮(NH_4^+ -N)、硝态氮(NO_3^- -N)和有机氮(Org-N)的变化

堆肥初期,堆料中铵态氮、硝态氮含量分别占总氮的16.9%、1.5%。进入高温期,铵态氮含量增加(表4),第4天达到最大值4.56 g/kg,之后下降。在降温期,铵态氮下降、硝态氮含量增加,并且硝态氮的增加幅度高达79.5%。堆肥结束时,堆体中的铵态氮较堆制初期减少74.1%;硝态氮含量较堆制初期增加87.5%。堆肥中有机氮含量总体上随着堆肥时间的增加呈降-升-降的趋势,进入高温期有机氮含量迅速下降(表4),第4天达到最低值11.4 g/kg,进入降温期有机氮含量上升(表4)。堆肥结束时,堆体中的有机氮含量较堆制初期减少4.1%。

表4 堆肥不同时期各种碳氮含量的变化情况

Table 4 Changes of carbon and nitrogen at different stages during composting

氮素组分	初期(1 d)含量 (g/kg)	高温期(2~12 d)		降温期(13~17 d)		稳定期(18~23 d)	
		含量(g/kg)	变化率(%)	含量(g/kg)	变化率(%)	含量(g/kg)	变化率(%)
水溶性有机碳	77.9 \pm 7.5	167 \pm 12	115	136 \pm 15	-18.9	50.2 \pm 2.9	-63.1
腐殖质	180 \pm 5	154 \pm 3	-14.4	191 \pm 3	24.2	184 \pm 2	-3.60
有机碳	370 \pm 2	366 \pm 2	-1.35	337 \pm 4	-7.40	334 \pm 2	-1.20
铵态氮	3.55 \pm 0.21	4.56 \pm 0.38	28.5	1.70 \pm 0.23	-62.9	0.92 \pm 0.15	-45.9
硝态氮	0.32 \pm 0.02	0.39 \pm 0.02	21.9	0.7 \pm 0.0	79.5	0.6 \pm 0.1	-14.3
有机氮	17.1 \pm 0.4	11.4 \pm 0.2	-33.6	17.6 \pm 0.6	55.0	16.4 \pm 0.5	-6.60

2.3.3 堆肥化中氨气释放浓度的变化

氨气释放浓度在堆肥初期迅速增加(图3),第4天达到最大(17.0 mg/m³),随后迅速下降,第5天开始又有所上升,到第7天又出现一小峰值(7.97 mg/m³),随后缓慢下降并在堆肥中后期趋于稳定,

且在稳定期降幅较大(表4),堆肥结束时降至0.86 mg/m³。堆肥23 d共释放氨气101.3 mg/m³,高温期释放量占释放总量的81.0%。铵态氮、氨气释放浓度与温度、pH呈正相关,并且两者均与温度呈显著正相关。

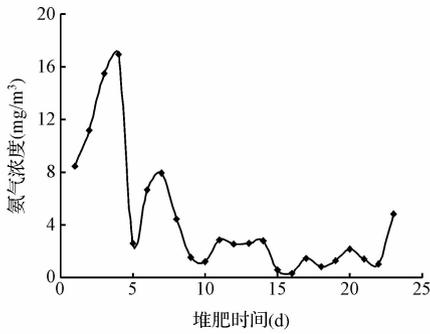


图 3 堆肥过程中氨气浓度的变化

Fig.3 Changes of ammonia concentration during composting

2.4 堆肥化中主要微生物生理群与碳氮含量及堆温、pH 值的相关关系

由表 5 可知,纤维素分解菌与水溶性有机碳、有机碳、温度呈负相关;与腐殖质 pH 呈正相关。氨化细菌数量与氨气释放浓度和铵态氮呈显著正相关;与硝态氮、有机氮、温度呈负相关。亚硝化细菌数量与硝态氮呈正相关;与铵态氮、有机氮、温度呈负相关。反硝化细菌数量与硝态氮呈显著正相关;与铵态氮呈负相关。固氮菌与铵态氮、有机氮和 pH 呈正相关;与温度和硝态氮呈负相关。

表 5 堆肥过程中主要微生物生理群与氮碳及其他因素间的相关系数

Table 5 Correlation coefficient of nitrogen carbon transformation and influencing factors during composting

因素	氨化细菌	亚硝化细菌	反硝化细菌	固氮菌	纤维素分解菌
水溶性有机碳(g/kg)	0.5160	0.1193	0.4021	0.5545	-0.6489
有机碳(g/kg)	0.4545	0.4255	0.0901	0.4407	-0.7856
腐殖质(g/kg)	0.4591	-0.0584	0.7824	-0.8815	0.3551
氨态氮含量(g/kg)	0.8254 *	-0.1986	-0.7415	0.4900	-0.0807
硝态氮含量(g/kg)	-0.3558	0.5745	0.8694 *	-0.6838	0.2651
有机氮含量(g/kg)	-0.2524	-0.2243	0.5810	0.6647	0.2441
氨气(mg/m ³)	0.8676 *	-0.2779	-0.4348	-0.0844	-0.0709
温度(℃)	-0.3060	-0.2003	-0.7947	-0.2732	-0.9064 *
pH	0.4839	0.6637	0.2258	0.3796	0.0644

备注: * 和 ** 分别表示相关性达显著($p < 0.05$)和极显著水平($p < 0.01$)。

3 讨论

3.1 纤维素分解菌在堆肥碳素转化中的作用

堆肥过程中,纤维素、木质素等的降解是堆肥腐熟的关键,纤维素通过微生物分泌的纤维素酶对其进行降解。本实验中,纤维素分解菌的数量一直在增加,而在降温期较高温期增加迅速,此时正是有机碳含量下降最多的时期,且纤维素分解菌数量与有机碳含量呈现负相关关系,说明纤维素、木质素等碳素化合物的矿化和分解在堆肥高温期以后被嗜温性纤维素分解菌加速了。腐殖质在稳定期增加较多,是因为稳定期开始微生物主要利用较难降解的纤维素、木质素等物质为碳源,这类物质降解的同时,也逐渐形成了与初期腐殖质相比结构更为复杂的新的腐殖质类物质,从而使腐殖质的含量增加,这与魏自民的研究一致^[19]。本实验中,稳定期纤维素分解菌

的数量仍然以较高速率增加充分说明在此阶段纤维素分解菌对于腐殖质类物质的形成具有重要作用。

3.2 氮素微生物生理群在堆肥氮素转化中的作用

堆肥中氨化细菌通过氧化、水解、还原作用将含氮有机物分解释放出氨气^[20]。本实验结果显示,堆肥中氨化细菌数量最大,均高于其他氮素生理群微生物几个数量级。其中氨化细菌在高温期处于大幅度上升趋势,使得氨态氮含量和氨气释放浓度均在高温期达到最大,而其他阶段均下降;并且氨化细菌与铵态氮、氨气释放浓度呈显著正相关关系,由此说明较高的氨化细菌存在量使得转化的铵态氮含量较高,并进一步促进了氨气的挥发,从而使得堆肥在高温期的氮素损失量占总损失的 49%。此外,氨化细菌的数量在高温期保持较高数量,说明氨化细菌有较高的耐热性。

硝化作用可以分为 2 个相对独立而又联系紧密

的阶段:第1阶段是 NH_4^+ -N 氧化为 NO_2^- -N,靠亚硝化细菌完成;第2阶段是 NO_2^- -N 氧化为 NO_3^- -N,由硝化细菌完成^[21]。本实验中亚硝化细菌平均数量从堆肥初期到降温期处于缓慢上升趋势,降温期的上升幅度最大,同时堆肥过程中硝态氮增加,其中在降温期的增加率最大,高达 79.5%;并且亚硝化细菌与硝态氮呈正相关关系,说明正是由于降温期较多数量的亚硝化细菌可以将 NH_3 或 NH_4^+ 转化成 NO_2^- ,硝化细菌继续将 NO_2^- 氧化为 NO_3^- ,对硝态氮在降温期的大幅度增加起了很关键的作用。

反硝化是硝酸盐或亚硝酸盐被反硝化细菌还原成 N_2O 或 N_2 的过程。细菌的反硝化分为 4 个步骤,即: $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ 。本实验反硝化细菌数量和硝态氮含量最大值都出现在降温期的第 17 天,并且反硝化细菌的数量在降温期的增加幅度非常大,同时反硝化细菌与氨态氮呈负相关关系,而与硝态氮成显著正相关关系,这与马丽红^[8]的研究结果不同。可能与堆肥中存在较高浓度的 NH_4^+ ,有一些反硝化菌株将铵离子氧化成亚硝酸盐氮乃至硝酸盐氮的硝化作用有关,因为同时兼具硝化及反硝化功能的反硝化细菌在好氧环境中能够存在^[22],只是由此生成的硝态氮含量相对于硝化作用形成的硝态氮贡献较少。可见,在本实验中硝化细菌的硝化作用和兼具硝化功能的反硝化细菌的硝化作用共同作用使堆肥中硝态氮含量比初期增加了 87.5%。硝化细菌和反硝化细菌数量在降温期大幅度增加,使得硝态氮在降温期增加幅度最大,高达 79.5%,这一关系尚属首次发现,未见他人报道。

固氮菌的作用是将植物所不能够直接利用的氮转化为植物可以吸收、利用的形式^[6]。本实验中固氮菌与有机氮均在高温期和稳定期下降,而在降温期增加,增加幅度也较大;并且固氮细菌与铵态氮、有机氮均呈正相关关系。说明降温期较高的固氮菌对堆肥中有机氮的形成起了很大作用,这与马丽红^[8]的研究一致,同时固氮菌越多铵态氮越多,或许是因为固氮菌固定空气中的 N_2 而生成铵态氮,从而也就说明固氮菌能在堆肥条件下固氮,这与蒲一涛等^[23]的研究一致。

3.3 影响微生物生理群生长的因素分析

纤维素分解菌及氮素微生物生理群均温度呈负相关,说明过高的温度会抑制菌的活性。本实验中只有氨化细菌在高温期数量最多,此期间的温度范围在 39~63℃ 之间,其他四种菌数量最大值均在稳

定期或降温期出现,此期间的温度范围在 26~48℃,这与王立群^[24]在鸡粪发酵中发现氨化细菌适合生长温度为 45~55℃,且 65℃ 时仍保持一定的数量水平,而硝化细菌、反硝化细菌、亚硝化细菌适合生长范围是 35~45℃ 研究结果相似。并且亚硝化细菌、硝态氮含量均与温度呈负相关关系,表明硝化细菌不耐高温,亚硝化细菌数量较少,硝化作用弱,因而整体上硝态氮含量较少。此外,本实验中微生物生理群各个菌株数量均与 pH 呈现正相关关系,或许是因为此类菌适宜生长的 pH 范围一般在 7~9 之间,甚至更大,而本实验中 pH 处于恰好 7.5~9 之间,因此适宜各类菌的生长。

4 结论

(1) 在堆制的 23 d 里,堆温在 50℃ 以上持续了 11 d,55℃ 以上持续了 9 d,达到了高温堆肥的卫生要求。

(2) 堆肥过程中纤维素分解菌的数量一直在增加,对于堆肥后期较难降解的纤维素、木质素等有机碳化合物分解以及腐殖质的形成起了很大作用。堆肥结束时水溶性有机碳和有机碳分别降低 35.6% 和 9.82%,腐殖质增加 2.4%。

(3) 堆肥过程中,氨化细菌在高温期大幅度增加,其数量与氨气释放浓度、铵态氮呈正相关。其作用使堆肥过程中氮素损失量的 49% 发生在高温期。亚硝化细菌和反硝化细菌数量都在降温期增加幅度较大,且都与硝态氮呈正相关;尤其是反硝化细菌数量在堆制结束时达堆制初期的 13 倍,分析表明堆肥中可能存在一些同时兼具硝化及反硝化功能的反硝化细菌,与亚硝化细菌一起作用使硝态氮含量比初期增加了 87.5%。堆制结束时,固氮菌数量达堆制初期的 2.61 倍,且在堆制过程中与铵态氮和有机氮含量呈正相关,对堆肥中有机氮的形成起很大作用。

(4) 氨化细菌在高温期数量最多,其他 4 种菌数量最大值均在稳定期或降温期出现。

参考文献

- [1] Mondini C., Insam H. Community level physiological profiling as a tool to evaluate compost maturity: A kinetic approach. *European Journal of Soil Biology*, **2003**, 39(3): 141-148
- [2] Tang J. C., Kanamori T., Inoue Y., et al. Changes in the microbial community structure during thermophilic com-

- posting of manure as detected by the quinone profile method. *Process Biochemistry*, **2004**, 39(12) : 1999-2006
- [3] Haruta S., Nakayama T., Nakamura K., et al. Microbial diversity in biodegradation and reutilization processes of garbage. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **2005**, 99(1) : 1-11
- [4] 姚拓,龙瑞军,师尚礼,等. 高寒草地不同扰动生境土壤微生物氮素生理群数量特征研究. *土壤学报*,**2007**,44(1):122-129
Yao Tuo, Long Ruijun, Shi Shangli, et al. Populations of soil nitrogen bacteria groups in alpine steppe of different disturbed habitats in Tianzhu. *Acta Pedologica Sinica*, **2007**, 44(1) : 122-129(in Chinese)
- [5] Tiquia S. M., Tam N. F. Y. Fate of nitrogen during composting of chicken litter. *Environmental Pollution*, **2000**, 110(3) : 535-541
- [6] 中国科学院南京土壤研究所微生物组著. 土壤微生物学研究. 北京:科学出版社,**1985**. 232-298
- [7] 肖维伟. 禽粪便及废弃物好氧堆肥中氮转化细菌的研究. 哈尔滨:东北农业大学硕士学位论文,**2008**
Xiao Weiwei. Study on nitrogen removal bacteria in aerobic composting of poultry manure. Harbin; Master Dissertation of Northeast Agricultural University, **2008**(in Chinese)
- [8] 马丽红. 牛粪堆肥化中氮素形态与微生物生理群的动态变化和耦合关系. *农业环境科学学报*,**2009**, 28(12) : 2674-2679
Ma Lihong. Changes of nitrogen forms and microbial physiological group diversity and their relations during composting of cow manure. *Journal of Agro-Environment Science*, **2009**, 28(12) : 2674-2679 (in Chinese)
- [9] 贺琪,李国学,张亚宁,等. 高温堆肥过程中的氮素损失及其变化规律. *农业环境科学学报*,**2005**, 24(1) : 169-173
He Qi, Li Guoxue, Zhang Yaning, et al. N loss and its characteristics during high temperature composting. *Journal of Agro-Environment Science*, **2005**, 24(1) : 169-173(in Chinese)
- [10] 赵秋,张明怡,刘颖,等. 猪粪堆肥过程中氮素物质转化规律研究. *黑龙江农业科学*,**2008**,(2):58-60
Zhao Qiu, Zhang Mingyi, Liuying, et al. Study on the nitrogen transforming regulation during the pig dung compost. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, **2008**, (2) : 58-60(in Chinese)
- [11] 秦莉,沈玉君,李国学,等. 不同 C/N 比对堆肥腐熟度和含氮气体排放变化的影响. *农业环境科学学报*,**2009**,28(12):2668-2673
Qin Li, Shen Yujun, Li Guoxue, et al. The impact of composting with different C/N on maturity variation and emission of gas concluding N. *Journal of Agro-Environment Science*, **2009**, 28(12) : 2668-2673(in Chinese)
- [12] 中华人民共和国标准《水质铵的测定-纳氏试剂比色法》,(GB7479-1987)
The Standard of PRC《Water Quality-Determination of Ammonium-Nessler's Reagent Colorimetric Method》, (GB7479-1987) (in Chinese)
- [13] 张聿柏,等. 堆肥过程中硝态氮测定方法的改进. *中国农学通报*,**2009**,25(7):176-178
Zhang Yubo, et al. Improvement of the determining method of nitrate nitrogen in compost proce humic substance esss. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, **2009**, 25(7) : 176-178(in Chinese)
- [14] 鲍士旦. 土壤农化分析. 南京:南京农业大学,**1981**. 439-440
- [15] 周建斌,李生秀. 碱性过硫酸钾氧化法测定溶液中全氮含量氧化剂的选择. *植物营养与肥料学报*, **1998**, 4(3):299-304
Zhou Jianbin, Li Shengxiu. Choosing of a proper oxidizer for alkaling persulfate oxidation to determining total nitrogen in solution. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, **1998**, 4(3) : 299-304(in Chinese)
- [16] 赵斌. 微生物学实验. 北京:科学出版社,**2002**. 72-75
- [17] 中华人民共和国标准《粪便无害化卫生标准》,(GB7959287)
The Standard of PRC《The Hygienic Standard of Manure Harmless》, (GB7959287) (in Chinese)
- [18] 杨国义,夏钟文,李芳柏,等. 不同通风方式对猪粪高温堆肥氮素和碳素变化的影响. *农业环境科学学报*,**2003**,22(4):463-467
Yang Guoyi, Xia Zhongwen, Li Fangbai, et al. Transformation of nitrogen carbon during pig manure composting under different aeration modes at high-temperature. *Journal of Agro-Enviroment Science*, **2003**, 22(4) : 463-467 (in Chinese)
- [19] 魏自民,王世平,席北斗,等. 生活垃圾堆肥过程中腐殖质及有机态氮组分的变化. *环境科学学报*,**2007**,27(2):235-240
Wei Zimin, Wang Shiping, Xi Beidou, et al. Changes of humic substances and organic nitrogen forms during municipal solid waste composting. *Acta Scientiae Circumstantiae*, **2007**, 27(2) : 235-240(in Chinese)
- [20] 张庆华,戴习林,李怡,等. 凡纳滨对虾养殖池中氨化细菌的鉴定及系统发育分析. *水产学报*, **2007**, 31(5):692-698
Zhang Qinghua, Dai Xilin, Li Yi, et al. Identification

- and phylogenesis of ammonifying bacteria from pond water of *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries of China*, **2007**, 31(5) : 692-698 (in Chinese)
- [21] 朱晓东,张根玉,朱雅珠,等. 硝化细菌的生物学特性以及在水产养殖中的应用. *水产科技情报*, **2009**, 36(5) : 221-224
Zhu Xiaodong, Zhang Genyu, Zhu Yazhu, et al. The biological characteristic of nitrifying bacteria and the application in aquaculture. *Fisheries Science and Technology Information*, **2009**, 36(5) : 221-224 (in Chinese)
- [22] 何芳,康贻军,单君,等. 一株高耐氧反硝化细菌的筛选及其反硝化产物确定. *微生物学通报*, **2008**, 35(1) : 35-39
He Fang, Kang Yijun, Shan Jun, et al. An oxygen-tolerant denitrifying strain and its denitrifying processes. *Microbiology*, **2008**, 35(1) : 35-39 (in Chinese)
- [23] 蒲一涛,邢苗. 接种固氮菌对堆肥发酵过程的影响. *环境卫生工程*, **2004**, 12(2) : 65-67
Pu Yitao, Xing Miao. Effect of nitrogen-fixation bacteria on the fermentation of refuse compost. *Environmental Sanitation Engineering*, **2004**, 12(2) : 65-67 (in Chinese)
- [24] 王立群,曹立群,肖维伟,等. 鸡粪好氧发酵氮转化与相应细菌数量变化规律的研究. *中国土壤与肥料*, **2008**, (5) : 61-65
Wang Liqun, Cao Liqun, Xiao Weiwei, et al. Study on regulation of N-removal and N-removal bacteria in the course of chicken manure aerobic fermentation. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, **2008**, (5) : 61-65 (in Chinese)