

接种菌剂对堆肥微生物利用碳源能力的影响

冯 宏, 张新明, 李华兴, 黎 宁, 刘远金

(华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642)

摘要: 以城市污泥和园林废弃物为堆肥原料, 接种高效菌剂, 应用 Biolog 方法研究堆肥中不同阶段微生物的群落多样性和微生物对 Biolog GN2 微平板上胺类、氨基酸类、糖类、羧酸类、聚合物类和其他类碳源的利用能力. 结果表明, 微生物在不同堆肥阶段对 6 类碳底物的利用能力不同, 但每个阶段都是对糖类碳源消耗得最多. 接种菌剂使堆肥前期 (0~35 d) 的微生物对各类有机碳源的利用能力提高, 特别是在堆制 21 d 微生物利用碳源的速度和消耗量显著增强. 接种菌剂提高了微生物群落功能多样性和群落均匀度.

关键词: 菌剂; 堆肥; 碳源; Biolog GN2

中图分类号: S126

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X (2005) 04-0019-04

Effect of microbial inoculum on capability of utilizing carbon sources by microbes in compost

FENG Hong ZHANG Xin-ming LI Hua-xing LINing LIU Yuan-jin

(College of Resources and Environment, South China Agric Univ., Guangzhou 510642 China)

Abstract High efficiency microbial inoculum was used for co-composting of municipal sludge and branch debris and functional microbial diversity in different compost stage and their utilization pattern of amines, amino acids, carbohydrates, carboxylic acids, polymers and micellaneous were studied by Biolog method. The results showed that the utilizing capability of microbes on six carbon substrates was different in different compost stage, but carbohydrates were always easily to be consumed by microbes in every stage. When microbial inoculum was added to the compost, consuming of carbon sources by microbes in the early stage (0~35d), especially in 21d was more rapid. Microbial inoculum could enhance microbial community functional diversity and evenness degree.

Key words microbial inoculum; co-composting; carbon sources; Biolog GN2

微生物在固体废弃物的降解过程中起着关键作用, 堆肥过程中有关微生物的研究越来越得到重视^[1~3]. 已有研究表明, 接种微生物能提高堆肥腐熟速度, 是加速固体废弃物资源化的一条有效途径^[4~9]. Biolog 方法最早是由 Garland 等^[7]提出的一种新的群落水平测定代谢活性的方法, 已经得到国内外学者的广泛应用^[8,9]. 本研究应用 Biolog 方法研究堆肥中不同阶段微生物的群落多样性和堆肥不同阶段微生物对 Biolog GN2 微平板上胺类、氨基酸

类、糖类、羧酸类、聚合物类和其他类碳源^[10]的利用情况, 为进一步摸清堆肥中微生物活动规律提供依据.

1 材料与方法

1.1 堆肥原料

供试污泥为佛山市镇安生活污水处理厂的污泥. 污泥的 pH 6.48, 有机碳 298.3 g/kg, 全 N、P、K 分别为 43.70、1.76、1.53 g/kg, 水分为 730.89 g/kg.

收稿日期: 2005-01-26

作者简介: 冯 宏 (1977-), 女, 硕士. 通讯作者: 李华兴 (1949-), 男, 教授, 硕士;

E-mail: huaxl@scau.edu.cn

基金项目: 佛山市科技发展专项资金项目 (02060021)

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

经测试重金属含量均不超标。园林废弃物来自佛山市中山公园修剪下来的新鲜树枝和杂草碎屑(粉碎成长 10~50 mm), 其有机碳为 426.8 g/kg 全 N、P、K 分别为 7.45、0.92、1.69 g/kg 水分为 345.22 g/kg

选取经过室内模拟和室外堆肥效果较好的菌剂作为供试菌剂。菌剂的制备: 将混合菌分别接种到相应的液体培养基中, 在 35℃下, 以 180 r/min 进行摇床培养后, 转移到发酵罐中进行发酵培养, 发酵罐的工作容积为 10 L, 温度为 37℃、pH 调至 7.2 整个过程保持中性至微碱性, 搅拌速度 150 r/min 通风量为 100~120 L/h 观察浑浊度并取样分析, 菌剂用量为 0.24%。菌剂中含细菌 7.5×10^{11} CFU/mL, 真菌 9.1×10^8 CFU/mL, 放线菌未做测定, 其中高温(55℃)细菌有 3.7×10^6 CFU/mL

1.2 试验设计与操作

堆肥试验在佛山市五峰公园的堆肥基地进行。试验共设 2 个处理, 接种菌剂的处理和无接种菌剂, 3 次重复。各处理堆肥的废弃物用量都是按污泥与园林废弃物的湿质量比为 1:1 进行配制。即各处理的污泥和园林废弃物各为 1 040 kg 接种菌剂的处理加接种菌剂 5 L

把污泥与园林废弃物按所设计的比例充分混合均匀, 此时 C/N(质量比)为 30.25:1.00 水质量分数调至 67%。堆肥在 2.0 m×1.5 m×1.5 m 的水泥池中进行。随着原料的加入, 用喷雾器分层喷洒菌剂, 以保证菌剂在堆体中分布均匀。堆肥开始前 18 d 每 3 d 翻堆 1 次, 之后每 6 d 翻堆 1 次。按照堆肥进程(0.3、9.21、35、62 d)分别在堆体的周围、中心等不同部位取 4 或 5 个混合样, 用四分法取舍。一部分样品自然风干后供化学指标分析, 一部分立即做预处理当天测定有关的微生物指标。

1.3 测试项目及分析方法

参照 Garland 等^[7]和杨永华等^[11]的方法, 利用 Bio log GN 2 微平板来研究不同微生物群落对不同单一碳源利用能力的差异, 以获得堆肥微生物群落结构和功能多样性方面的信息。

采用培养 72 h 的数据计算堆肥微生物群落多样性指数, 公式参考杨永华^[10]和 Zak^[12]的方法。

2 结果与分析

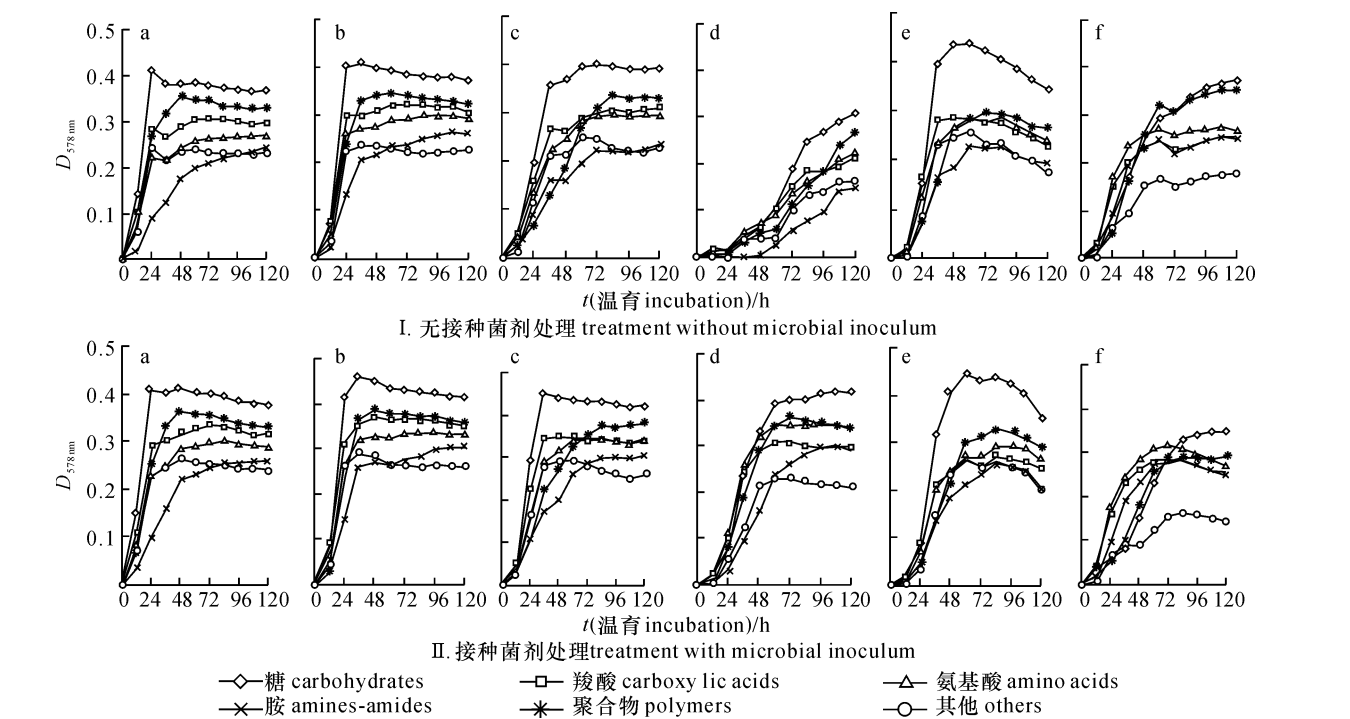
2.1 不同堆肥阶段微生物对 6 类碳底物的利用能力

图 1-I 是无接种菌剂处理不同堆肥阶段微生物对不同碳底物的利用情况曲线。可以看出不同堆肥阶段微生物对碳源的利用不相同。在 $D_{578 \text{ nm}}$ 稳定前,

各阶段微生物对 6 类碳源的利用情况是不同的。0 d 对糖类等其他 5 类碳底物的消耗速度均在培养 0~24 h 期间急剧升高, 反映了这 5 类碳源在此期间的消耗速度最快, 消耗量的顺序为: 糖类>聚合物类>羧酸类>氨基酸类>其他类, 24 h 后逐渐趋于稳定; 而对胺类的利用速度则平缓上升, 于 72 h 后趋于稳定; 3 d 各类有机碳源消耗曲线与 0 d 相似, 微生物对胺类的利用速度逐渐加快, 且在 60 h 以后高于其他类; 9 d 0~12 h 各类碳源的 $D_{578 \text{ nm}}$ 都很低, 12~24 h 为除聚合物类外, 是其他 5 类碳源消耗最快的阶段, 聚合物类的上升曲线与 0 d 和 3 d 的相比, 显得较为平缓; 21 d 0~60 h 期间, 各类碳源消耗量少, 以后才逐渐上升, 最终以糖消耗量最多, 胺类消耗量最少; 35 d 0~12 h 期间各类碳源几乎不消耗, 12~24 h 对各类碳源的消耗速度急剧升高, 到达稳定时, 对糖类的消耗量显著高于其他 5 类; 62 d 温育 60 h 以前各类碳源的曲线上升比较平缓, 0~12 h 期间对各类碳源几乎不消耗, 24~48 h 期间, 对羧酸类和氨基酸类的消耗量高于其他 4 类, 60 h 后对糖类和聚合物类消耗量增至最多, 其他类的消耗量最少。

图 1-II 是接种菌剂的堆肥处理在不同堆肥阶段微生物的 $D_{578 \text{ nm}}$ 变化曲线。可见, 在 0.3、9 d 微生物对各类碳源的利用曲线与无接种菌剂处理的大体一致, 但对各类碳源的消耗速度均较无接种菌剂处理的快, 尤其是在 21 d 0~12 h 各类碳源几乎不消耗, 12~60 h 各类碳源消耗速度均加快, 但以胺类和其他类速度较慢, 60 h 以后趋于稳定, 糖类消耗量最大, 其他类消耗量最小, 显著不同于无接种菌剂处理。35 d 的 $D_{578 \text{ nm}}$ 与无接种菌剂处理的差异不大, 而 62 d 的 $D_{578 \text{ nm}}$ 则比无接种菌剂处理的稍低。表明接种菌剂, 在堆肥的前期(0~35 d), 可提高对各类有机碳源的利用能力, 特别是在堆制 21 d 利用碳源的速度和消耗量显著增加。

上述结果表明, 不同堆肥阶段的微生物对 6 类碳底物的利用能力不同, 但每个阶段都是对糖类消耗得最多, 这与糖类在堆肥中含量较多有关。丁文川等^[1]认为, 堆肥初期有机物对微生物的增长起主导作用。而堆肥前期易分解的可溶性糖较多, 二次发酵期, 木质素纤维素等难降解物质的分解, 又重新产生可溶性糖类物质^[13]。所以整个堆肥过程中能够利用糖类的微生物群落较多。接种菌剂, 在堆肥的前期(0~35 d), 微生物对各类有机碳源的利用能力增强, 特别是在堆制 21 d 利用各类碳源的速度和消耗量显著提高。这与接种菌剂后由于堆肥中物质转化的改变而导致各类碳源含量丰富程度有关。



a 原料阶段 initial stage (0 d); b 升温阶段 temperature increasing stage (3 d); c 高温阶段 high temperature stage (9 d); d 降温阶段 cooling stage (21 d); e 稳定阶段 steady stage (35 d); f 腐熟阶段 mature stage (62 d)

图 1 2种处理不同堆肥阶段微生物对不同碳底物的利用能力

Fig 1 Capability of utilizing carbon sources by microbes in two treatment in different composting stages

2.2 堆肥不同阶段的微生物群落均匀度和多样性的差异

son指数、McIntosh指数和 McIntosh均匀度来综合描述堆肥不同阶段微生物的多样性和群落均匀度。表 1 反映了无接种菌剂处理的不同堆肥阶段微生物群

表 1 2个处理的不同堆肥阶段微生物群落功能多样性 ¹⁾						
Tab 1 Diversity and evenness indices of microbes in two treatments in different composting stages						
处理 treatment	堆肥阶段 composting stage	Shannon指数 Shannon index	Shannon均匀度 Shannon evenness	Simpson指数 Simpson index	McIntosh指数 McIntosh index	McIntosh均匀度 McIntosh evenness
无接种菌剂 without microbial inoculum	0 d	4.498 4 a	0.990 1 a	87.376 2 b	3.213 5 a	0.995 5 a
	3 d	4.501 3 a	0.991 7 a	88.687 2 a	3.272 5 a	0.996 6 a
	9 d	4.456 4 a	0.972 7 ab	84.570 9 c	3.310 9 a	0.993 1 ab
	21 d	3.966 6 c	0.933 7 c	47.045 6 f	2.083 6 c	0.969 0 c
	35 d	4.323 0 b	0.959 0 b	80.453 2 d	3.344 1 a	0.992 0 ab
	62 d	4.313 4 b	0.970 3 ab	76.080 7 e	2.708 1 b	0.981 3 bc
接种菌剂 with microbial inoculum	0 d	4.493 9 a	0.990 3 a	87.095 3 a	3.469 3 bc	0.995 6 a
	3 d	4.515 9 a	0.992 1 a	89.722 5 a	3.647 8 ab	0.997 0 a
	9 d	4.478 2 ab	0.990 8 a	85.268 4 ab	3.781 2 a	0.996 5 a
	21 d	4.441 0 b	0.977 8 b	80.681 4 bc	3.510 4 bc	0.992 0 ab
	35 d	4.336 2 c	0.968 0 b	77.699 2 dc	3.409 8 c	0.987 4 b
	62 d	4.363 4 c	0.967 9 b	74.953 2 d	3.065 5 d	0.986 6 b

1) 多重比较采用 DM RT法, 表中所示数值为 3次重复的平均值, 相同处理同列数据中字母相同者示差异不显著 (P=0.05)

落功能多样性。在不同堆肥阶段的 Shannon指数和 Shannon均匀度结果表明, 升温和高温期微生物群落

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

物种丰富而均匀, 显著多于稳定期和腐熟期, 其中降温期的最低. 各个时期的 Simpson 指数均有显著差异, 表明堆肥不同阶段微生物处于动态变化之中, 其群落结构演替非常迅速, 造成最常见种的差异. McIntosh 指数和 McIntosh 均匀度的差异性和 Shannon 指数大体一致. 与无接种菌剂处理的不同堆肥阶段微生物群落功能多样性相比 (表 1), 接种菌剂对群落功能多样性的影响主要在降温期 (21 d), 这一时期的 5 个参数均较无接种菌剂处理增大, 这一时期的 Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均显著高于稳定期和腐熟期, Shannon 均匀度和 McIntosh 均匀度与稳定期和腐熟期相比, 无显著差异. 表明接种菌剂提高了降温期微生物群落功能多样性和微生物群落均匀度.

3 结论

高温好氧堆肥是一种受微生物控制的有机物降解和转化的过程. 在堆肥过程中, 本研究将堆肥物料

C/N 比、含水量、通风方式、pH 和温度控制调整为微生物活动的最佳条件, 给微生物的生长和优势菌更替及充分发挥作用营造一个良好环境. 为了有效控制堆肥过程, 必须了解这个过程中微生物对有机物的降解转化作用、微生物菌系的结构及其变化规律^[19]. 传统的微生物学研究方法^[1-5]和分子生物学技术^[15]都被应用于堆肥微生物研究中, 作者用 Biolog 方法为堆肥微生物生态学研究领域提供了新的思路和方法, 分析结果表明, 不同堆肥阶段微生物对各类碳源的利用各不相同. 接种菌剂后, 在 0、3、9 d 微生物对各类碳源的利用曲线与无接种菌剂处理大体一致, 但对各类碳源的消耗量均较无接种菌剂处理的多, 尤其是 21 d、35 d 的 $D_{578\text{ nm}}$ 和无接种菌剂比差异不大, 而 62 d 的 $D_{578\text{ nm}}$ 比未接种菌剂的稍低, 具体原因有待深入研究. 不同堆肥阶段微生物群落功能多样性和均一性不同, 接种菌剂提高了降温期 (21 d) 微生物群落功能多样性和群落均匀度.

参考文献:

[1] 丁文川, 李 宏, 郝以琼, 等. 污泥好氧堆肥主要微生物类群及其生态规律 [J]. 重庆大学学报 (自然科学版), 2002 25(6): 113-116

[2] 袁月祥, 廖银章, 刘晓风, 等. 有机垃圾发酵过程中的微生物研究 [J]. 微生物学杂志, 2002 22(1): 22-24

[3] 刘 婷, 陈朱蕾, 周敬宣. 外源接种粪便好氧堆肥的微生物相变化研究 [J]. 华中科技大学学报, 2002 19(2): 57-59

[4] 席北斗, 刘鸿亮, 孟 伟, 等. 高效复合微生物菌群在垃圾堆肥中的应用 [J]. 环境科学, 2001 22(5): 122-125

[5] 李秀艳, 吴星五, 高廷耀, 等. 接种高温菌剂的生活垃圾好氧堆肥处理 [J]. 同济大学学报 (自然科学版), 2004 32(3): 367-371

[6] 冯 宏, 李华兴. 菌剂对堆肥的作用及应用 [J]. 生态环境, 2004 13(3): 439-441

[7] GARLAND J L, MILLS A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole carbon source utilization [J]. Appl Environ Microbiol 1991 57: 2 351-2 359

[8] JEFFREY S B, DANIEL P R, PATRICIA M, et al. Analysis of fungal communities by sole carbon source utilization profiles [J]. Journal of Microbiological Methods 2001 45(1): 53-60

[9] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文. 有机物料种类及腐熟水平对土壤微生物群落的影响 [J]. 应用生态学报, 2004 15(3): 487-492

[10] JULIET P M. Analysis of microbial community functional diversity using sole carbon source utilization profiles—Acritique [J]. FEMS Microbiol Ecol 2002 42 1-14

[11] 杨永华, 姚 健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响 [J]. 微生物学杂志, 2000 20(2): 23-25

[12] ZAK J W M, MOORHEAD D et al. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach [J]. Soil Biochem, 1994 26 1 101-1 108

[13] 朴 哲, 崔宗均, 苏宝林. 高温堆肥的物质转化与腐熟进度关系 [J]. 中国农业大学学报, 2001 6(3): 74-78

[14] ATLAS R M. Diversity of microbial community [J]. Adv Microb Ecol 1984 7 1-47

[15] 崔宗均, 宫小燕, 李国学. 变形梯度凝胶电泳在堆肥微生物研究中的应用 [J]. 微生物学通报, 2004 31(5): 116-119

【责任编辑 周志红】