

周筱洁,梅 娟,段恩帅,等. 硫酸亚铁对牛粪秸秆堆肥过程理化性质和微生物种群结构的影响[J]. 江苏农业科学,2024,52(1):183-190.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.01.026

硫酸亚铁对牛粪秸秆堆肥过程理化性质和微生物种群结构的影响

周筱洁¹,梅 娟^{1,2},段恩帅¹,李 贵¹,苏良湖³

(1. 苏州科技大学环境科学与工程学院,江苏苏州 215009; 2. 江苏省环境科学与工程重点实验室,江苏苏州 215009;

3. 生态环境部南京环境科学研究所,江苏南京 210042)

摘要:硫酸亚铁可作为原位固氮剂,减少畜禽粪便堆肥的氮损失。向牛粪和玉米秸秆混合材料中添加 5% 硫酸亚铁(LF 组),研究硫酸亚铁对堆肥微生物种群结构的影响。堆肥进行 49 d,堆体温度 50 ℃ 以上持续 7~10 d。硫酸亚铁降低了堆肥的 pH 值,LF 产品的种子发芽指数为 109.9% (对照为 89.7%),达到腐熟。高通量测序结果表明,2 组的细菌多样性均随堆肥的进行逐渐增加,添加硫酸亚铁降低了细菌物种的丰富度和种群多样性。硫酸亚铁在高温期前期抑制了放线菌门,使厚壁菌门成为最优势种群(相对丰度 53.5%)。2 组全过程的优势属均是 *Streptomyces* 和 *Bacillus*,硫酸亚铁增加了高温期 *Bacillus* 的丰度,表明 *Bacillus* 对酸性环境的耐受性强。2 组在高温期的其他优势种群有很大差别,对照组为 *Thermobifida*、*Pseudoxanthomonas*、*Glycomyces* 和 *Luteimonas* 等牛粪秸秆堆肥中常见的高温木质纤维素降解细菌,LF 中为 *norank_f_Mitochondria*、*Caproiciproducens*、*Pseudoxanthomonas*、*unclassified_f_Rhizobiaceae* 和 *Mycobacterium* 等活跃在富含有机物的酸性环境中的种群。硫酸亚铁降低了牛粪堆肥中典型功能菌的丰度,但其他特有降解菌仍对木质纤维素有高效的降解作用,能够使堆肥过程顺利进行。

关键词:牛粪;好氧堆肥;硫酸亚铁;细菌群落

中图分类号:X71;S141.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)01-0183-08

我国农业废弃物中作物秸秆和畜禽粪便的产生量大,环境影响较大。2019 年,我国秸秆总产量约 8.5 亿 t,其中,玉米秸秆约 2.8 亿 t。目前,秸秆最主要的处理方式是焚烧和随意丢弃,对生态环境造成严重不利影响^[1]。据测算,我国畜禽粪污年产量高达 30.5 亿 t,已成为农业面源污染的主要来源^[2]。好氧堆肥协同处理畜禽粪便和秸秆,具有无害化处理效果好、经济效益好等优点,是目前应用较广的处理方式。

但好氧堆肥往往存在氮素损失的问题,尤其在高温期因氨(NH₃)挥发造成的氮素损失可占总损失的 46.8%~77.4%,不仅降低了堆肥品质,还对环境造成污染^[3]。使用外源添加剂是减少堆肥氮损失的重要途径之一,如酸性添加剂可降低堆肥前期

的堆肥材料 pH 值,从而减少 NH₃ 挥发,降低氮素损失^[4]。

硫酸亚铁(FeSO₄)为酸性,用于堆肥可以降低堆肥材料的 pH 值,并可与堆肥中的氨形成络合物以固定氮,因此可以作堆肥的保氮剂。有研究已将硫酸亚铁用作畜禽粪便堆肥的原位固氮剂。郜斌斌等在牛粪玉米秸秆堆肥中添加硫酸亚铁,发现堆肥过程中氨的挥发量降低了 43.7%,总氮损失减少 33.8%^[5]。吴梦婷等研究发现,添加干质量 4.1% 硫酸亚铁能减少牛粪玉米秸秆堆肥中 15.6% 氮损失,还可提高堆肥产品的腐熟度和腐殖酸质量^[6]。

已有研究多关注 FeSO₄ 对堆肥过程中氮素含量和氮素形态的影响,而对相关微生物种群结构的研究较少。本研究采用分子生物学的方法,在堆肥温度明显变化的阶段取样分析微生物多样性,对比硫酸亚铁处理和对照中微生物种群结构的差异,讨论硫酸亚铁对牛粪秸秆混合堆肥过程微生物的影响,以期揭示硫酸亚铁促进堆肥的微生物机制,加深对堆肥过程微生物种群构成和演替过程的认识。

收稿日期:2023-03-06

基金项目:国家自然科学基金(编号:51508367、51908380)。

作者简介:周筱洁(1997—),女,江苏徐州人,硕士研究生,研究方向为环境污染控制理论与技术。E-mail:belieber518@163.com。

通信作者:梅 娟,博士研究生,副教授,研究方向为固体废弃物资源化。E-mail:susie_mei@163.com。

1 材料和方法

1.1 试验材料和装置

玉米秸秆取自江苏省连云港市某农场,破碎至

直径 2 ~ 4 cm,风干牛粪购自福建省漳州市某奶牛场,去除杂质后破碎至直径为 2 ~ 4 cm。堆肥材料的基本性质,见表 1^[4]。

表 1 堆肥材料的基本性质

材料	C 含量 (%)	N 含量 (%)	C/N	含水率 (%)	pH 值
牛粪	28.61 ± 0.09	2.38 ± 0.21	12.02	20.79 ± 0.31	8.90 ± 0.04
玉米秸秆	40.80 ± 0.12	1.62 ± 0.11	25.19	16.95 ± 0.35	6.26 ± 0.05

试验采用自制堆肥装置^[7],主体为 50 L 塑料桶,放置于泡沫板上,外部包裹保温材料。堆肥时进行连续鼓风,曝气泵与装置底部相连,曝气量为 400 mL/min。塑料桶底部放置不锈钢架和铁丝网来实现均匀曝气。

1.2 试验方法

将牛粪和玉米秸秆按照干基质量比 1 : 2 均匀混合,调节含水率约为 60%,每个处理约 9 kg。试验共设置 2 组,LF(处理组)添加堆肥物料干质量 5% 硫酸亚铁,CK(对照组)不加化学添加剂。堆肥地点为苏州科技大学环保实验楼 B 栋,堆肥时间为 2021 年 9 月 7 日至 10 月 25 日,持续 49 d,于 0、4、9、12、19、26、49 d 在堆体不同深度处取样混合并进行翻堆。每次取 100 g 鲜样于 - 20 ℃ 冰箱冷冻保存,100 g 鲜样自然风干后破碎,过 80 目的样品筛并保存。

1.3 指标分析方法

采用带探针的电子温度计测量堆体温度,每天 10:00 和 16:00 读取堆体及环境温度。

采用去离子水浸提鲜样(固液比为 1 : 10),以 200 r/min 速度振荡 30 min,过滤后取上清液,用于测定 pH 值、电导率(EC 值)和种子发芽指数(GI)。EC 使用便携式电导率仪(Raymagnetic DDB - 303A)测定。pH 值采用便携式 pH 计(Raymagnetic pH - 3c)测定。GI 测定:取 5 mL 浸提液于垫有滤纸的培养皿中,均匀放置 20 粒白菜种子,在 25 ℃ 条件下避光培养 48 h,对照组使用 5 mL 去离子水替代浸提液。GI 的计算参考 Yang 等的公式^[8]。

1.4 16S rRNA 高通量测序分析

在堆肥 4、9、12、19、26 d,分别取样分析微生物的种群结构。使用 E. Z. N. A. 土壤 DNA 分离试剂盒(美国 Omega Bio - Tek 股份有限公司)从样品中提取 DNA。样品 DNA 送上海美吉生物医药科技有

限公司,利用 Illumina HiSeq PE250 平台进行 16S rRNA 基因 V4 可变区高通量测序,引物采用 515F(5' - GTGCCAGCMGCCGCGG - 3')和 806R(5' - GGACTACHVGGGTWTCTAAT - 3')。高通量测序结果的数据分析均基于上海美吉生物医药科技有限公司所提供的云服务(<https://www.i-sanger.com>)进行,数据分析前按最小样本序列数进行数据抽平处理,采用云平台自带的分析模块进行分析。

2 结果和分析

2.1 堆肥过程理化性质的变化

堆体温度是评价好氧堆肥腐熟和无害化的重要指标之一,反映了堆体中有机物的降解和微生物活性。堆肥初期,微生物迅速降解有机物并释放能量,使堆体温度迅速升高。由图 1 - a 可知,2 组升温快速,在堆肥 1 d 温度超过 50 ℃,进入高温期。LF、CK 组在堆肥 5 d 均达最高温度,分别为 57.5、60.0 ℃。堆体温度在 12 d 快速降低至 40 ℃左右,16 d 趋于稳定,40 d 受室温影响又有所降低。CK 和 LF 的高温持续时间分别为 7、10 d,符合 GB 7959—1987《粪便无害化卫生标准》的要求。高温期 CK 和 LF 的温度差别不大,LF 的高温持续时间超过 CK,降温期 LF 温度略高于 CK。表明,添加硫酸亚铁可延长堆体高温期的持续时间,有利于堆肥的腐熟及无害化。

2 组的 pH 值均呈堆肥前期增加、后期降低逐渐稳定的变化规律。由图 1 - b 可知,添加硫酸亚铁明显降低了堆体的初始 pH 值,LF 的初始 pH 值为 5.6,低于 CK(7.3)。高温期,堆体的 pH 值快速升高,CK 在 12 d 升高至 8.3,LF 在 9 d 快速达最高值 7.6。这是由于高温期有机氮被微生物通过氨化作用生成 NH₄⁺ - N,导致了堆体 pH 值的增加^[4]。堆肥后期,随着堆体温度下降,受高温抑制的硝化菌

活性增强,硝化作用产生大量的 H^+ ,堆体的 pH 值略有降低^[9]。堆肥结束时,LF、CK 的 pH 值分别为 7.8、6.6,符合 NY/T 525—2021《有机肥料》中的 pH 值要求(5.5~8.5)。好氧堆肥在高温期因 NH_3 的挥发造成的氮素损失可占总损失的 46.8%~77.4%^[3],LF 在高温期 pH 值低于 CK,添加硫酸亚铁可降低堆肥物料在高温期的 pH 值,有利于减少因 NH_3 挥发而导致的氮素损失。

堆肥产品含盐量过高会限制种子发芽和植物的生长。EC 值反映了堆肥浸提液中的盐基离子的浓度,是评价堆肥产品的重要指标之一^[4]。由图 1-c 可知,2 组的 EC 值整体上先增加后降低。LF

由于硫酸亚铁的添加,增加了堆肥可溶性盐的含量,除 9 d 外,EC 值均高于 CK。当 EC 值高于 4 mS/cm 时,堆肥产品会对植物生长产生抑制作用^[10],对照组和处理组最终的 EC 值分别为 1.9、2.7 mS/cm,均能满足要求。

种子发芽指数(GI)是评价堆肥腐熟度的重要生物指标,NY/T 525—2021《有机肥料》中规定,GI 值>70% 表明堆肥已腐熟。由图 1-d 可知,19 d 后,2 组 GI>80%,达到腐熟。当堆肥结束时,CK 和 LF 的 GI 值分别为 89.7% 和 109.9%,LF 的 GI 值高于 CK,添加硫酸亚铁提高了堆肥产品的种子发芽指数,有利于堆体的腐熟。

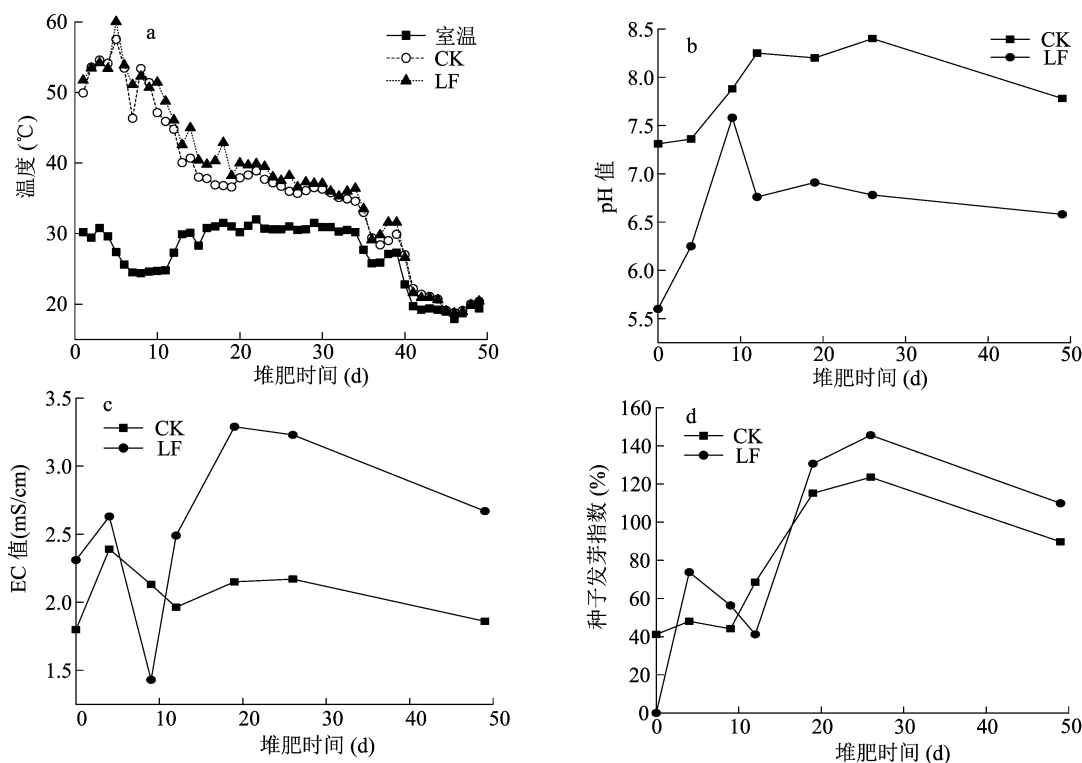


图1 堆肥过程中温度、pH 值、种子发芽指数、EC 值的变化

2.2 堆肥微生物种群结构的演替过程

2.2.1 微生物多样性的变化

由表 2 可知,2 组在堆肥过程中微生物多样性指数的变化情况。Shannon 指数和 Simpson 指数反映样品中细菌物种的多样性程度;而丰富度指数 Chao1 和 ACE 反映了物种数量的变化,其值越高表明物种的丰富度越高。在堆肥的 4~26 d,CK 和 LF 的物种丰富度整体呈升高的变化规律,与对照相比,LF 的物种丰富度是波动上升的。2 组的种群多样性(Shannon 指数)也随着堆肥的进行不断增加,但均在 12 d 出现 Shannon 指数的最小值。与 CK 相比,LF 的 Shannon

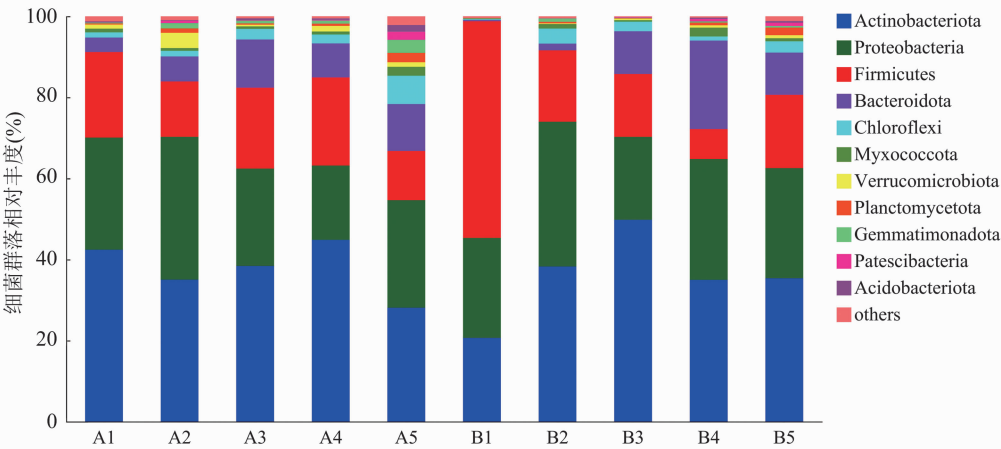
指数整体上偏低,细菌的种群多样性低于 CK。且 LF 的 Chao1 指数也低于同期对照,物种的丰富度也低于 CK。硫酸亚铁添加降低了堆体中的细菌多样性。测序数据表明,测序量足够反映样品中绝大多数细菌的物种信息,且表 2 中的覆盖度(Coverage)均接近于 1,说明测序结果真实性高。

2.2.2 门水平的种群演替

堆肥过程中的优势种群有放线菌门(Actinobacteriota)、变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidota),相对丰度总和为 78.4%~99.1%(图 2)。CK 中 Actinobacteriota 的相对丰度最高,为

表 2 微生物多样性指数

处理	Shannon	Simpson	ACE	Chao1	Coverage
CK(4 d)	4.252	0.035	742	774	0.997 1
CK(9 d)	4.218	0.038	733	795	0.997 1
CK(12 d)	4.051	0.035	918	833	0.996 4
CK(19 d)	4.300	0.032	918	925	0.996 0
CK(26 d)	5.178	0.014	1 301	1 304	0.995 1
LF(4 d)	3.116	0.128	847	733	0.996 6
LF(9 d)	4.171	0.032	684	677	0.997 3
LF(12 d)	3.551	0.088	646	663	0.997 2
LF(19 d)	4.228	0.044	820	799	0.996 8
LF(26 d)	4.572	0.040	1 013	1 006	0.996 1



A 为对照组(CK); B 为硫酸亚铁处理组(LF); A1~A5 和 B1~B5 为堆肥 4、9、12、19、26 d 样品。图 3 同
图2 堆肥过程中门水平群落结构变化

与 CK 相比,硫酸亚铁在堆肥初期(4 d)明显抑制了 Actinobacteriota, 其在 LF 中相对丰度为 20.6%,而 CK 中为 42.4%。同时,Firmicutes 成为 LF 的最优势种群,4 d 相对丰度达到 53.5%,远高于 CK 的 21.1%。降温期,LF 的 Firmicutes 相对丰度低于 CK,Bacteroidota 的相对丰度高于 CK。

2.2.3 属水平的种群演替 由图 3 可知,在对照中,链霉菌属(*Streptomyces*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)属于堆肥全过程的优势种群,整体上 *Streptomyces*(7.9%~16.7%)的相对丰度高于 *Bacillus*(5.7%~13.2%)。高温期优势种群有 *Thermobifida*(12.84%)和 *Pseudoxanthomonas*(7%~8%),进入降温期后二者相对丰度降低。*Glycomyces*(10.72%)仅在 4 d 作为优势种群出现。其他阶段性优势种群还包括 unclassified_f_Rhizobiaceae、norank_f_Xanthomonadaceae、*Luteimonas*、*Saccharomonospora*、*Saccharomonospora*、*Seinonella*、*Nonomuraea*。

35.0%~44.8%。Actinobacteriota 能够增加木质素的水溶性^[11],对高温和 pH 值变化具有更强的耐受性,能长时间维持木质纤维素分解活性^[12]。Proteobacteria 在高温期后丰度有所降低。Proteobacteria 在堆肥过程中积极地参与堆体内的碳、氮循环,降解纤维素、木质素等大分子物质和丁酸、丙酸、葡萄糖等小分子物质^[13-14]。Firmicutes 的丰度呈波动变化,而 Bacteroidota 进入降温期后丰度升高。Firmicutes 具有很强的有机质降解能力,可将堆肥中的含氮有机物分解成可供植物吸收利用的氮源^[15-16]。Bacteroidota 在堆肥过程中能够分解木质素、纤维素和半纤维素^[17]。

CK 堆肥全过程的优势种群均属于木质纤维素降解功能菌。*Streptomyces* 是堆肥和环境常见的优势放线菌,能产生漆酶对木质素发生溶解作用,对木质纤维素的降解有重要作用^[18]。*Bacillus* 属于厚壁菌门(Firmicutes),是一种能在高温下产生孢子的革兰氏阳性菌^[19],对木质纤维素降解有促进作用^[20]。且 *Bacillus* 具有广泛的生化活性,通常是堆肥全过程的优势种群。高温双歧菌属(*Thermobifida*)属于嗜热放线菌,具有复杂的多糖水解酶系统,其分泌的过氧化物酶能够降解和氧化木质素化合物的芳基醚键^[21]。*Pseudoxanthomonas* 属于变形菌门(Proteobacteria),在降解纤维素的复合菌群中起重要作用^[22],同时具有降解芳香族化合物和纤维素的功能^[23]。

对照其他阶段性的优势菌也均与纤维素的降解有关。糖霉菌属(*Glycomyces*)是环境中常见的放线菌。Zhang 等在番茄秸秆堆肥的降温阶段,发现

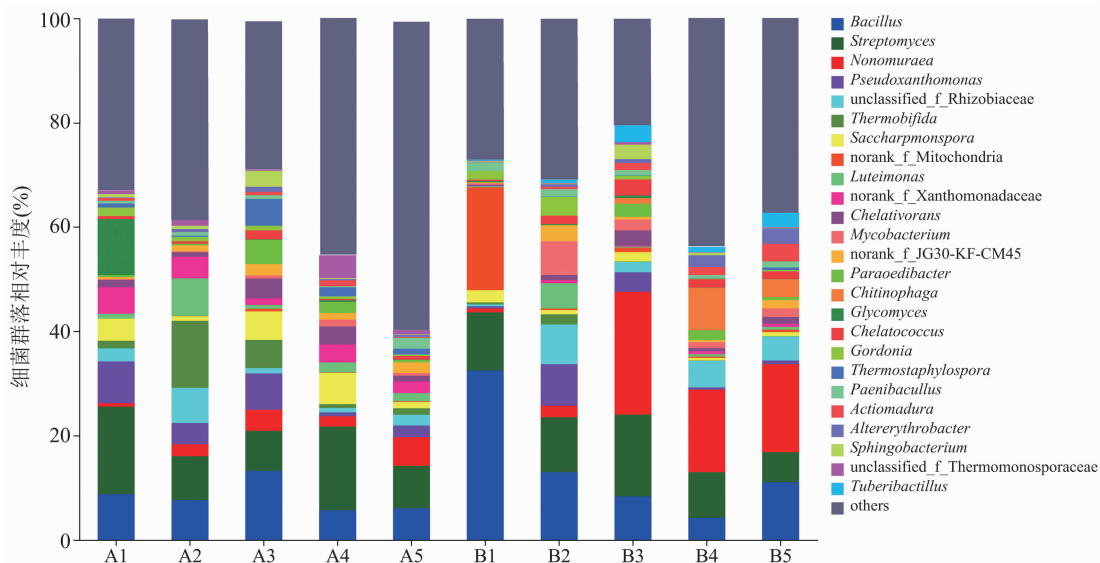


图3 堆肥过程中属水平群落的结构变化

Glycomyces 参与纤维素的降解^[24]。Xie 等在粪便和作物残渣的混合堆肥中发现, *Glycomyces* 成为耐盐耐热的优势类群^[25]。藤黄单胞菌 (*Luteimonas*) 在 CK 堆肥 9 d 相对丰度达到 7.17%。*Luteimonas* 属变形菌门, 是常见的纤维素降解菌。有研究在番茄秸秆堆肥和蔗髓-猪粪堆肥中检出 *Luteimonas* 是优势菌, 且认为属于木质纤维素降解功能菌群^[26-27]。有些 *Luteimonas* 菌株还被用来与其他菌配合, 构建木质素和纤维素降解复合菌剂, 有较好效果^[28-29]。在对照堆肥 9 d, *unclassified_f_Rhizobiaceae* 相对丰度也较高 (6.74%)。随着研究深入, 环境中的非共生根瘤菌被发现具有多种功能, 包括纤维素和污染物的降解功能^[30]。在很多畜禽粪便和作物秸秆堆肥过程中, 未鉴定的根瘤菌属也被检出是优势种群^[31-34]。王涵在牛粪与稻草堆肥中发现, 根瘤菌属 (*Rhizobium*) 在堆肥各阶段均出现, 高温期对 β -glucosidase 的产生和纤维素的降解起主要作用^[35]。

LF 中全过程的优势种群也是 *Bacillus* (4.22% ~ 32.45%) 和 *Streptomyces* (7.9% ~ 16.7%)。高温期前期和堆肥 26 d, *Bacillus* 的相对丰度高于 *Streptomyces*, 降温期开始 *Streptomyces* 的相对丰度高于 *Bacillus*。LF 高温期的优势种群还有 *norank_f_Mitochondria* (19.69%)、*Caproiciproducens* (6.54%)、*Pseudoxanthomonas* (3.7% ~ 8.0%)、*unclassified_f_Rhizobiaceae* (4.6% ~ 7.6%)、*Mycobacterium* (6.45%)。堆肥 4 d, *norank_f_Mitochondria* 的相对丰度达到 19.69%, 为第二优势种群。进入降温期, *Nonomuraea* 的相对丰度明显增加 (15.8% ~

23.66%), 成为降温期的最优势种群。

堆肥 4 d, LF 中 *Bacillus* 的相对丰度明显较高, 达到 32.45%, 对照仅为 8.77%, 表明添加硫酸亚铁对 *Bacillus* 有利, 这可能与添加硫酸亚铁产生的酸性环境有关。同时, 优势种群 *norank_f_Mitochondria* (19.69%) 属厚壁菌门, 多在有机物含量丰富的酸性环境中存在, 如柑橘皮渣青贮发酵的原料中, 红树莓自然发酵的前期, 与 *Cyanobacteria*、*Rhodococcus*、*Rosenbergiella*、*Bacillus* 和 *Acetobacter* 等成为共存的优势细菌^[36-37]。产己酸菌属 (*Caproiciproducens*) (6.54%) 也是 LF 高温前期的优势种群。*Caproiciproducens* 是发酵环境中的产酸菌, 有研究认为它能够将有机物高选择性转化为乳酸和正丁酸, 再进一步延长碳链生成中链脂肪酸, 是乳酸转化为中链脂肪酸的关键微生物^[38-39]。分支杆菌属 (*Mycobacterium*) 是放线菌, 也是在 LF 高温期出现的优势种群 (堆肥 9 d, 相对丰度 6.45%)。*Mycobacterium* 是堆肥中与纤维素降解相关的微生物群落^[35]。席北斗等利用微生物强化生活垃圾堆肥, 提高了腐熟期的放线菌多样性, 有利于木质纤维素的降解, 而分支杆菌属是检出的最优势放线菌^[40]。

Nonomuraea 在 LF 的降温期相对丰度明显增加 (15.80% ~ 23.66%), 与对照有明显区别, 成为最优势种群。也有研究在猪粪堆肥过程中检测到 *Nonomuraea* 是优势种群, 而生物炭添加量的增加对 *Nonomuraea* 的活动不利^[41]。徐小雄等在野生阿宽蕉根际土壤中筛选出产纤维素酶的降解 *Nonomuraea*, 其与链霉菌属、小单菌属同为该环境中

的优势种群^[42]。LF 降温期特有的优势微生物还有 *Chitinophaga* (堆肥 19 d, 相对丰度 8.2%), 现代分类学将 *Chitinophaga* 界定为拟杆菌门。赵晓艳等发现, 菌株 *Chitinophaga* sp. CH-1 能产生阿拉伯糖苷酶, 其在协同木聚糖酶在低聚木糖的生产、废物的生物处理、食品或饲料养分的提高及半纤维素的生物转化等方面起着非常重要的作用^[43]。

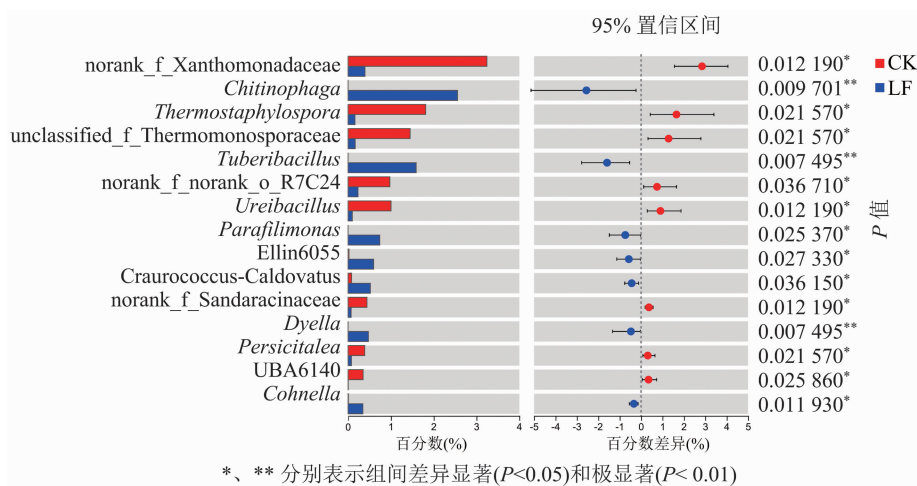


图4 堆肥过程中CK组和LF组优势种群的组间差异

分析2组在属水平的差别发现, 堆肥初期, LF显著增加了 *Bacillus* 的丰度, 这表明 *Bacillus* 对酸性环境更耐受, 在低 pH 值和高温条件下, 其代谢活动较放线菌更活跃。

2组在高温期的优势菌种类也有很大差别。对照的高温优势菌有 *Thermobifida*、*Pseudoxanthomonas*、*Glycomyces* 和 *Luteimonas*。*Thermobifida* 和 *Pseudoxanthomonas* 是典型的高温期木质纤维素降解细菌, 尤其在牛粪秸秆堆肥中为常见优势种群。变形菌门的 *Luteimonas* 也是常见的纤维素降解菌, 一些菌株被用于构建木质素和纤维素降解复合菌剂。LF 的高温期优势菌有 norank_f_Mitochondria、*Caproiciproducens*、*Pseudoxanthomonas*、unclassified_f_Rhizobiaceae 和 *Mycobacterium*。Mitochondria 多在有机物含量丰富的酸性环境中存在, *Caproiciproducens* 是发酵环境中的产酸菌, 而 *Mycobacterium* 在生活垃圾堆肥中活跃。

表明在添加硫酸亚铁的条件下, 物料的 pH 值降低, 有机物的代谢程度仍旺盛, 并出现轻微的缺氧现象。同时, 由于堆肥材料中微生物种群的多样性, 具有木质纤维素降解作用的微生物种类丰富, 对环境有不同适应性的特有种群存在一定的代偿关系, 使木质纤维素的降解可以顺利进行。硫酸亚

2.3 硫酸亚铁对优势种群结构的影响

2.3.1 优势种群的组间差异 由图4可知, CK和LF的微生物种群存在显著性差异种属, 其中, 差异性较大的优势种群包括 norank_f_Xanthomonadaceae、*Chitinophaga*、*Thermotaphylospora*、unclassified_f_Thermomonosporaceae、*Tuberibacillus*、*Ureibacillus*。

铁的添加虽降低了一些典型功能菌的丰度, 但其他特有降解菌的活跃仍然对木质纤维素有高效的降解, LF组堆体温度高于对照也证明了这点。

降温期, 组间最大的差别就是 LF 中 *Nonomuraea*, 也是最优势种群, 相对丰度明显高于对照。已有研究表明, *Nonomuraea* 是天然活性代谢产物的重要来源。其在降温期的活跃不仅有利于木质纤维素的进一步降解, 还有利于堆肥产品的无害化。

2.3.2 种群变化的影响因素分析 基于主坐标成分 (PCoA) 分析的堆肥样品微生物群落多样性结果, 由图5-a可知, 前2种主成分共解释了 43.89% 细菌群落变化, PC1 的解释比例为 24.37%, PC2 的解释比例为 19.52%。CK组和LF组的样本组间距离较大, 说明添加硫酸亚铁导致堆体的微生物群落结构发生了较大的改变。LF的微生物群落结构在 4~19 d 和 26 d 明显分成2个组团, 也存在明显的种群结构差异。由图5-b可知, LF在高温期的优势菌 norank_f_Mitochondria、*Caproiciproducens* 与 pH 值呈负相关; LF在降温期的最优势种群 *Nonomuraea* 与 pH 值呈负相关, LF降温期 *Nonomuraea* 的相对丰度明显高于 CK 的原因可能是添加硫酸亚铁降低了堆体的 pH 值。LF微生物群落结构的变化与堆体

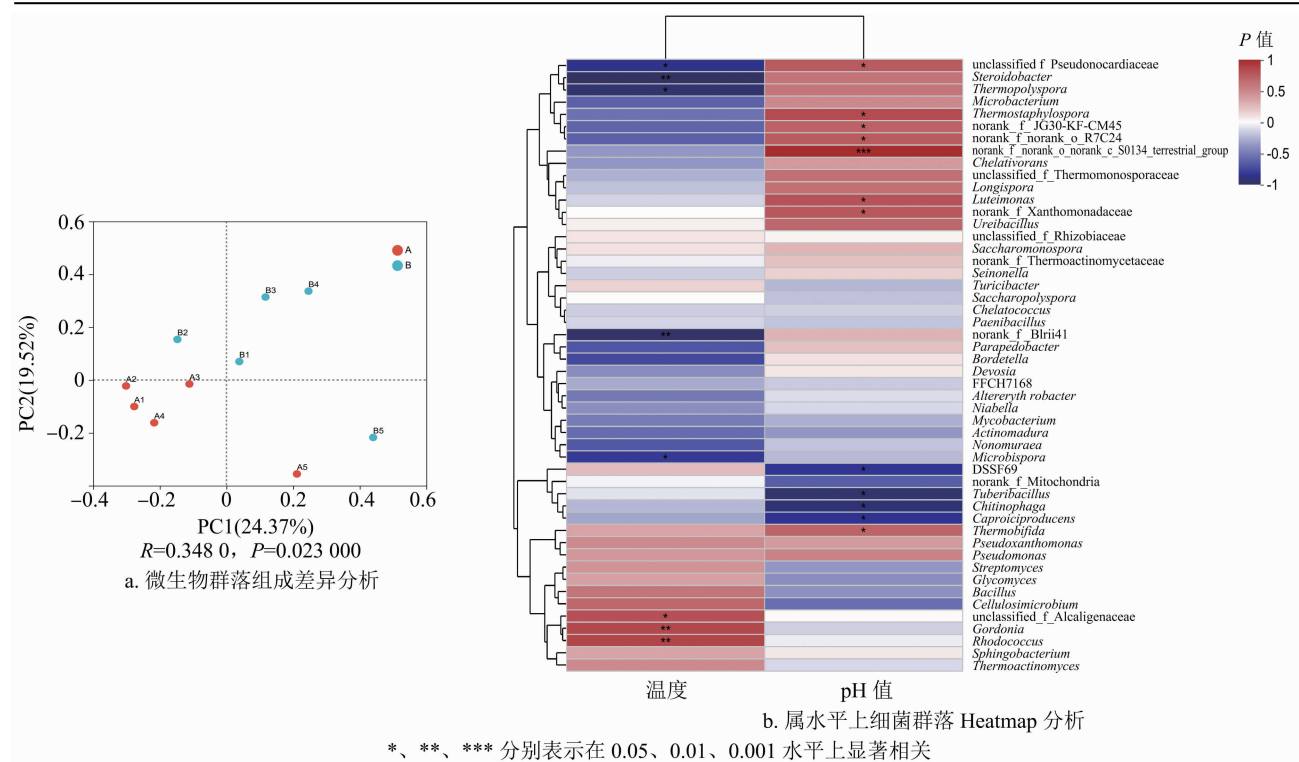


图5 微生物群落组成差异(a)与属水平上细菌培养群落 Heatmap 分析(b)结果

pH 值的关联性最强,相对于 LF 来说,pH 值对 CK 的微生物种群结构的影响较小。

3 结论

硫酸亚铁添加提高了堆体温度,降低了堆肥过程和产品的 pH 值,GI 结果可提高产品的质量,有利于植物生长。堆肥过程中,细菌多样性整体呈上升趋势,LF 的物种丰富度和种群多样性低于 CK。放线菌、变形菌、厚壁菌、拟杆菌是门水平上优势种群。与对照相比,硫酸亚铁在堆肥初期明显抑制了放线菌门,厚壁菌门成为 LF 的最优势种群,相对丰度达 53.47%,远高于对照的 21.11%。在属水平上,2 组出现的优势种群均被发现具有纤维素降解功能,2 个组全过程的优势种群都是 *Streptomyces* 和 *Bacillus*。堆肥初期,LF 明显增加了 *Bacillus* 的丰度,表明 *Bacillus* 对酸性环境耐受强。2 组在高温期的优势菌种类有很大差别,对照的高温优势菌是牛粪秸秆堆肥中常见的高温木质纤维素降解细菌,包括 *Thermobifida*、*Pseudoxanthomonas*、*Glycomyces* 和 *Luteimonas*; LF 的高温期优势菌有 *norank_f_Mitochondria*、*Caproiciproducens*、*Pseudoxanthomonas*、*unclassified_f_Rhizobiaceae* 和 *Mycobacterium*,多为在有机物丰富的酸性环境中活跃的种群。堆肥材料

中微生物种群的多样性,具有木质纤维素降解作用的微生物种类丰富,对环境有不同适应性的特有种群存在一定的代偿关系。硫酸亚铁的添加虽然降低了一些典型功能菌的丰度,但其他特有降解菌的活跃仍对木质纤维素有高效的降解作用,使堆肥过程可顺利进行。

参考文献:

[1]安 琪,员 瑗,戴玉成,等. 木质纤维素降解真菌菌株筛选及对玉米秸秆的生物降解研究[J]. 菌物学报,2023,42(3):782-792.

[2]第二次全国污染源普查公报[J]. 环境保护,2020,48(18):8-10.

[3]刘壮壮. 牛粪堆肥过程中保氮剂筛选及保氮机理研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2020.

[4]程 丰,何青山,宋明淦,等. 氨三乙酸对好氧堆肥过程中氮素保存效果的影响[J]. 环境工程学报,2021,15(2):699-708.

[5]郇斌斌,王 选,常瑞雪,等. 黏土矿物和化学添加剂对牛粪堆肥过程氮素固持的影响[J]. 农业工程学报,2018,34(20):250-257.

[6]吴梦婷,梅 娟,苏良湖,等. 硫酸亚铁和过磷酸钙对牛粪秸秆混合堆肥氮损失和腐殖化的影响[J]. 生态与农村环境学报,2020,36(10):1353-1361.

[7]Mei J, Ji K, Su L H, et al. Effects of FeSO_4 dosage on nitrogen loss and humification during the composting of cow dung and corn straw[J]. Bioresource Technology, 2021, 341:125867.

- [8] Yang Y, Wang G Y, Li G X, et al. Selection of sensitive seeds for evaluation of compost maturity with the seed germination index[J]. Waste Management, 2021, 136: 238 – 243.
- [9] 周江明, 王利通, 徐庆华, 等. 适宜猪粪与菌渣配比提高堆肥效率[J]. 农业工程学报, 2015, 31(7): 201 – 207.
- [10] García C, Hernández T, Costa F. The influence of composting and maturation processes on the heavy – metal extractability from some organic wastes[J]. Biological Wastes, 1990, 31(4): 291 – 301.
- [11] 蒋志伟. 赤泥对堆肥中木质纤维素降解和腐殖质形成及功能微生物群落演替的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2020.
- [12] 邓 辉, 王 成, 吕豪豪, 等. 堆肥过程放线菌演替及其木质纤维素降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(4): 581 – 586.
- [13] Ren X N, Wang Q, Chen X, et al. Elucidating the optimum added dosage of diatomite during co – composting of pig manure and sawdust: carbon dynamics and microbial community[J]. Science of the Total Environment, 2021, 777: 146058.
- [14] Zhao X Y, Xu K L, Wang J W, et al. Potential of biochar integrated manganese sulfate for promoting pig manure compost humification and its biological mechanism[J]. Bioresource Technology, 2022, 357: 127350.
- [15] Shi M Z, Wei Z M, Wang L Q, et al. Response of humic acid formation to elevated nitrate during chicken manure composting[J]. Bioresource Technology, 2018, 258: 390 – 394.
- [16] Li C N, Li H Y, Yao T, et al. Effects of microbial inoculation on enzyme activity, available nitrogen content, and bacterial succession during pig manure composting[J]. Bioresource Technology, 2020, 306: 123167.
- [17] Zhao Y, Lu Q, Wei Y Q, et al. Effect of actinobacteria agent inoculation methods on cellulose degradation during composting based on redundancy analysis[J]. Bioresource Technology, 2016, 219: 196 – 203.
- [18] 鲁伦慧. 农业废物堆肥中木质素降解功能微生物群落结构研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2014.
- [19] Duan M L, Zhang Y H, Zhou B B, et al. Effects of *Bacillus subtilis* on carbon components and microbial functional metabolism during cow manure – straw composting[J]. Bioresource Technology, 2020, 303: 122868.
- [20] Siu – Rodas Y, de los Angeles Calixto – Romo M, Guillén – Navarro K, et al. *Bacillus subtilis* with endocellulase and exocellulase activities isolated in the thermophilic phase from composting with coffee residues[J]. Revista Argentina de Microbiología, 2018, 50(3): 234 – 243.
- [21] Zhao Y X, Weng Q, Hu B L. Microbial interaction promote the degradation rate of organic matter in thermophilic period[J]. Waste Management, 2022, 144: 11 – 18.
- [22] 侯丽媛, 江经纬, 蒋建东, 等. 假黄单胞菌株 J1 的筛选及木质纤维素降解基因的生物信息学分析[J]. 南京农业大学学报, 2016, 39(4): 573 – 581.
- [23] Gerzova L, Videnska P, Faldynova M, et al. Characterization of microbiota composition and presence of selected antibiotic resistance genes in carriage water of ornamental fish[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e103865.
- [24] Zhang X M, Zhu Y, Li J L, et al. Exploring dynamics and associations of dominant lignocellulose degraders in tomato stalk composting[J]. Journal of Environmental Management, 2021, 294: 113162.
- [25] Xie G X, Kong X L, Kang J L, et al. Community – level dormancy potential regulates bacterial beta – diversity succession during the co – composting of manure and crop residues[J]. Science of the Total Environment, 2021, 772: 145506.
- [26] 徐晓东. 不同发酵方式对番茄秸秆细菌群落及产物应用效果的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- [27] 马超凡. 宏基因组学分析堆肥中木质纤维素降解功能菌群的演替及功能基因预测[D]. 南宁: 广西大学, 2020.
- [28] 白宇馨. 纤维降解复合菌剂的构建及其与酶制剂配施对沼渣堆肥的影响[D]. 银川: 宁夏大学, 2021.
- [29] 李 雯. 纤维素降解菌群构建及其与酶制剂对玉米秸秆堆肥的影响[D]. 银川: 宁夏大学, 2020.
- [30] 张晓霞, 马晓彤, 姜瑞波. 根瘤菌分类研究进展及存在的争议[J]. 微生物学通报, 2010, 37(4): 601 – 606.
- [31] 李文兵, 毕江涛, 刘 鹏, 等. 牛粪好氧堆肥发酵微生物群落结构演替与环境因子和腐熟度的相关性[J]. 环境工程, 2022, 40(1): 69 – 77.
- [32] 周 唯. 农业废物好氧堆肥中反硝化细菌的多样性研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2014.
- [33] 王伟东, 王小芬, 王彦杰, 等. 接种木质纤维素分解复合菌系对堆肥发酵进程的影响[J]. 农业工程学报, 2008, 24(7): 193 – 198.
- [34] 王伟东. 木质纤维素快速分解菌复合系及有机肥微好氧新工艺[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [35] 王 涵. 堆肥中 β – glucosidase 家族微生物群落与纤维素降解的相关性研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [36] 周月明. 柑橘皮渣青贮饲料中微生物生态及其对饲料品质的影响机理研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2019.
- [37] 阴芳冉. 红树莓自然发酵过程中生物活性研究与微生物多样性分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2019.
- [38] 石耀威. 厌氧微生物转化木薯酒糟制取中链脂肪酸工艺及机理研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2020.
- [39] Candry P, Radić L, Favere J, et al. Mildly acidic pH selects for chain elongation to caproic acid over alternative pathways during lactic acid fermentation[J]. Water Research, 2020, 186: 116396.
- [40] 席北斗, 党秋玲, 魏自民, 等. 生活垃圾微生物强化堆肥对放线菌群落的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(增刊 1): 227 – 232.
- [41] 黄家庆, 叶 菁, 李艳春, 等. 生物炭对猪粪堆肥过程中细菌群落结构的影响[J]. 微生物学通报, 2020, 47(5): 1477 – 1491.
- [42] 徐小雄, 冯慧敏, 徐云升, 等. 海南野生阿宽蕉根际土壤产纤维素酶放线菌的筛选[J]. 热带农业科学, 2018, 38(9): 57 – 64.
- [43] 赵晓艳, 朱庆圣, 朱 红, 等. 菌株 *Chitinophaga* sp. CH – 1 阿拉伯糖苷酶 Ara1805 基因克隆与表达[J]. 江西农业大学学报, 2018, 40(1): 182 – 188.