

# 枸杞枝条发酵木质纤维素降解与微生物群落多样性研究

冯海萍<sup>1</sup> 杨冬艳<sup>1</sup> 白生虎<sup>2</sup> 谢华<sup>1</sup> 刘晓梅<sup>2</sup> 裴红霞<sup>1</sup>

(1. 宁夏农林科学院种质资源研究所, 银川 750002; 2. 固原市原州区农业技术推广服务中心, 固原 756000)

**摘要:** 为探讨枸杞枝条基质化发酵中木质纤维素降解、微生物群落代谢能力及多样性特征, 采用正交试验设计, 以枸杞枝条粉和苦豆子茎秆粉质量比为 4:1 混合为试材, 采用 Biolog-ECO 鉴定方法, 研究不同发酵因子对枸杞枝条基质化发酵中微生物群落结构和多样性的影响。结果表明: 发酵结束时, 枸杞枝条基质纤维素、半纤维素和木质素降解率分别在 15%、19% 及 10% 以上; 木质纤维素降解率在温度为 60℃、含水率为 60%、添加油饼氮源及接种粗纤维素降解菌处理条件下较高, 其中纤维素、半纤维素和木质素降解率分别在 18.12%~19.22%、23.55%~25.21% 和 13.87%~14.24% 范围内, 显著高于其他处理; 该处理增加了枸杞枝条基质发酵高温期时微生物的活性和多样性, 平均颜色变化率分别为 1.019、1.062、0.943 和 1.117, 微生物多样性香浓指数、优势度指数和丰富度指数分别在 2.321~2.365、0.930~0.941 和 18.78~20.33 范围内, 提高了枸杞枝条粉堆体中微生物对部分碳源的代谢能力, 从而可促使有机质降解。

**关键词:** 枸杞枝条粉; 木质纤维素; 降解; 微生物; 群落多样性; 平均颜色变化率

中图分类号: TQ353.4<sup>+</sup>2; S317 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2017)05-0313-07

## Characteristics of Degradation of Lignocellulose and Microbial Community Diversity during Fermentation of Wolfberry Branches Substrate

FENG Haiping<sup>1</sup> YANG Dongyan<sup>1</sup> BAI Shenghu<sup>2</sup> XIE Hua<sup>1</sup> LIU Xiaomei<sup>2</sup> PEI Hongxia<sup>1</sup>

(1. Institute of Germplasm Resources, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Science, Yinchuan 750002, China

2. Guyuan Yuanzhou District Agricultural Technology Promotion Center, Guyuan 756000, China)

**Abstract:** The Chinese wolfberry branch, normally as agricultural wastes, is one of the most important renewable and reuseable resources of plant fibers in Ningxia. To improve the efficiency of wolfberry branch utilization, the characteristics of lignocellulose degradation, microbial community metabolism and diversity were studied during the fermentation of wolfberry branches substrate. By design of orthogonal experiment, wolfberry powder branches and sophora alopecuroides stem powder mixed in ratio of 4:1 were used to study the influence of fermentative factors on microbial community structure and diversity during the fermentation by Biolog-ECO system. The results showed that at the end of the fermentation, the degradation rates of cellulose, hemicellulose and lignin were stayed above 15%, 19% and 10%, respectively. The treatment, which added oil cake and inoculated with coarse cellulose degrading bacteria, got the higher degradation rates of lignocellulose at temperature of 60℃, moisture content of 60%, and the degradation rates of cellulose, hemicellulose and lignin were 18.12%~19.22%, 23.55%~25.21% and 13.87%~14.24%, respectively, which were increased significantly than those of the other treatments; microbial activity and diversity during high temperature period were increased. Average well color development of microbes were 1.019, 1.062, 0.943 and 1.117, and Shannon-Wiener index, Simpson index and richness index of microbes were 2.321~2.365, 0.930~0.941 and 18.78~20.33, respectively. The ability to metabolize microorganism on part of carbon source was improved, which resulted in promoting degradation of organic matter.

**Key words:** wolfberry branches powder; lignocellulose; degradation; microbes; community diversity; average well color development

收稿日期: 2017-03-13 修回日期: 2017-03-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(31501803)和宁夏农林科学院科技创新先导基金项目(NKYQ-16-05)

作者简介: 冯海萍(1981—),女,助理研究员,主要从事蔬菜生理及无土栽培研究,E-mail: fenghaiping2005@163.com

通信作者: 谢华(1965—),男,研究员,主要从事蔬菜学研究,E-mail: xiehua0002@163.com

## 引言

农业废弃物资源化合理利用与管理是我国高度关注的农业和环境问题<sup>[1-2]</sup>。如何循环利用和产出农业废弃物资源是我国实现资源友好发展的关键节点,利用这些资源制作多样化、无害化园艺基质,不仅可以缓解环境污染与资源浪费问题,而且还为补充或替代当前不可再生资源的草炭基质提供原料来源,对保护环境和发 展无土设施农业都大有益处。

宁夏现有枸杞种植面积达 5.34 万  $\text{hm}^2$  以上,且逐年增加,据估算年剪枝量达 20 万 t 以上,但这些资源的应用仅局限于焚烧、废弃,少量的用于防沙造林或者插扦育苗,丰富的可再生枸杞资源需要后续产业的开发。从事栽培基质研究的学者已从微生物菌剂、碳氮比、氮源类型及比例对枸杞枝条粉基质化发酵的堆温、碳素、氮素、物理性状、生物学性状等指标进行了较多研究<sup>[3-5]</sup>,但对枸杞枝条发酵中木质纤维素降解及微生物群落多样性的研究鲜有报道。据测定,枸杞枝条粉富含 97.30% 木质纤维素,是牛粪堆肥中木质纤维素的 1.38 ~ 1.86 倍<sup>[6]</sup>,玉米秸秆的 1.50 倍,玉米芯的 1.23 倍,小麦秸秆的 1.35 倍,稻草的 1.47 倍<sup>[7]</sup>。木质纤维素的降解是限制堆肥(基质化)腐熟进程及影响堆肥产品品质的关键因素<sup>[8]</sup>,微生物群落种类的多样性及其代谢能力是影响堆肥中木质纤维素降解的关键因素<sup>[9-10]</sup>。文献<sup>[11-12]</sup>研究表明,在堆肥(基质化)过程中添加有机物或接种微生物菌剂对微生物群落活性、多样性及碳源的利用影响较大。Biolog 微平板法是一种分析堆肥过程中微生物群落活性、多样性及碳源利用的有效手段<sup>[12-14]</sup>。本文以枸杞枝条粉和苦豆子茎秆粉质量比 4:1 混合为研究对象,在借助 Biolog 方法研究温度、含水率、外源菌剂及氮源对枸杞枝条基质化发酵中微生物群落的结构和功能多样性时,将碳源代谢利用情况与发酵基质中实际可利用碳源联系起来,以更好地了解枸杞枝条基质化发酵中木质纤维素的降解特性、微生物群落代谢能力及多样性特征,为枸杞枝条基质化整个体系进一步优化提供技术依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料来源及含量

本试验于 2015—2016 年在宁夏农林科学院园林场基质发酵场基地进行,试验材料有宁夏中宁枸杞枝条粉、苦豆子茎秆粉、鸡粪、油饼(胡麻榨完油后的渣滓压成饼)、堆肥发酵菌剂(粉剂,有效活菌总数在  $2 \times 10^{10}$  CFU/g 以上),粗纤维降解菌(粉剂,

有效活菌总数在  $10^9$  CFU/g 以上),锯末专用复合菌(粉剂,有效活菌总数在  $2 \times 10^8$  CFU/g 以上),其基本性质见表 1。

表 1 物料基本性质

Tab.1 Basic properties of materials

物料	pH 值	总氮	总磷	总钾	有机碳
		质量比/ ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )			
枸杞枝条粉	6.81	10.04	0.78	3.01	567.41
鸡粪	8.62	24.22	8.68	11.80	126.56
油饼		55.11	19.25	14.86	261.66

### 1.2 试验设计

以粉碎长度 0.3 ~ 0.5 cm 枸杞枝条粉和苦豆子茎秆粉为主材料,质量比为 4:1 进行混合,用鸡粪、油饼、尿素等辅料调节碳氮比至 30:1,试验采用  $L_9(3^4)$  正交设计,设置了翻堆温度、含水率、氮源、微生物菌剂 4 个因素,每个因素设置 3 个水平,共设 9 个处理(表 2),每个处理设 3 次重复。将粉碎的枸杞枝条装入容积为  $1 \text{ m}^3$  的发酵池,用水洒湿,微生物菌按照粉末菌剂、麸皮质量比 1:10 混合,然后按液料比 0.005 mL/g 分 2 次接种,第 1 次在发酵初始时接种,第 2 次在发酵 10 d 时结合翻料同时接种,初始含水率调节至 65%,覆盖塑料薄膜进行发酵。

表 2 枸杞枝条基质化发酵  $L_9(3^4)$  正交试验设计

Tab.2 Orthogonal design of  $L_9(3^4)$  for wolfberry branches substrate fermentation experiment

试验序号	温度/ $^{\circ}\text{C}$	含水率/%	微生物菌剂	氮源类型
1	70	60	锯末发酵菌剂	尿素
2	70	50	粗纤维降解菌	鸡粪
3	70	40	堆肥发酵菌剂	油饼
4	60	60	粗纤维降解菌	油饼
5	60	50	堆肥发酵菌剂	尿素
6	60	40	锯末发酵菌剂	鸡粪
7	50	60	堆肥发酵菌剂	鸡粪
8	50	50	锯末发酵菌剂	油饼
9	50	40	粗纤维降解菌	尿素

温度设置 3 个水平,分别为翻堆上限温度 70、60、50 $^{\circ}\text{C}$ ,当温度高于翻堆上限温度时进行翻堆;含水率设置 3 个水平,分别为 60%、50%、40%,当基质含水率低于设置的基质含水率控制下限时,补充灌溉水至初始含水率的 65%;微生物菌剂设置 3 个水平:锯末发酵菌剂、粗纤维降解菌和堆肥发酵菌剂;氮源设置 3 个类型:尿素、烘干鸡粪和油饼。

### 1.3 取样方法

发酵过程中,于第 40 天对发酵堆体取样,取样

方法为:在物料翻堆前取每个重复的中心物料约 250 g,装入无菌密封袋,待实验室测定用。

### 1.4 试验测定指标、方法及数据处理

(1)木质纤维素:采用 FIBERTEC 2010 型全自动纤维测定仪进行纤维素、半纤维素和木质素的测定<sup>[15]</sup>。

(2)微生物群落多样性:采用有 31 种碳源的生态板(Biolog-ECO)分析微生物群落的代谢特征,称取 10 g 发酵基质(称量前测量含水率),加入 90 mL 无菌生理盐水稀释,在摇床里振摇 30 min,静置沉淀 3~5 min, 然后进行 100 倍稀释,以每孔 150  $\mu$ L 稀释液加入微孔板中,将制备好的菌悬液倒入无菌移液槽中,使用 8 道移液器将其接种于微平板的 96 孔中。接种好的微平板放到铺有 6 层纱布的塑料饭盒中,为防止微平板鉴定孔中的菌悬液挥发,纱布保持一定的湿度。塑料饭盒用保鲜膜包裹,保鲜膜上用注射针头刺若干个小孔,以保证微生物培养所需要的氧气,将微平板避光培养。ECO 生态板放到 30 $^{\circ}$ C 恒温培养。分别于 24、48、72、96、120、168 h 时读数,测定波长均为 590 nm。

平均颜色变化率是反映土壤微生物代谢活性,即利用单一碳源能力的指标,计算公式<sup>[16]</sup>为

$$A_{wcd} = \sum (C_i - R) / n$$

式中  $C_i$ ——第  $i$  个非对照孔的吸光度

$R$ ——对照孔的吸光度

$n$ ——培养基碳源种类数(本文取 31)

Shannon - Wiener 多样性指数计算公式<sup>[17-19]</sup>

为: $H' = - \sum P_i \cdot \ln P_i$ 。式中  $P_i$  表示第  $i$  个非对照

孔中的吸光度与所有非对照孔吸光度总和的比值,即  $P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$ ;Simpson 优势度指数  $D = 1 - \sum P_i^2$ 。

(3)采用软件 DPS 7.05 和 Excel 2003 对试验数据进行方差及多重比较(Duncan 新复极差法)。

## 2 结果与分析

### 2.1 木质纤维素含量

由表 3 可以看出,与发酵前相比,处理的纤维素、半纤维素和木质素质量分数均低于处理前,各处理纤维素降解率均在 15% 以上,半纤维素降解率在 19% 以上,木质素降解率在 10% 以上。堆肥结束时,在不同翻堆温度中,翻堆温度 60 $^{\circ}$ C 枸杞枝条粉发酵中的纤维素、半纤维素和木质素降解率较高,分别为 18.12%、25.21% 和 13.87%,显著高于其他处理;在不同含水率管理中,含水率下限为 60% 枸杞枝条粉发酵中的纤维素、半纤维素和木质素降解率较高,分别为 19.22%、25.21% 和 14.19%,显著高于其他处理;在接种不同微生物菌剂中,接种粗纤维素降解菌的枸杞枝条粉发酵中的纤维素、半纤维素和木质素降解率较高,分别为 18.88%、23.55% 和 13.96%,与接种锯末发酵菌剂处理无显著差异,显著高于堆肥发酵菌剂处理;在添加不同氮源中,氮源为油饼枸杞枝条粉发酵中的纤维素、半纤维素和木质素降解率较高,分别为 18.50%、23.59% 和 14.24%,与添加鸡粪氮源处理无显著差异,显著高于添加尿素氮源处理。说明适宜翻堆温度、含水率、接种微生物菌、添加氮源有利于枸杞枝条粉木质纤

表 3 不同因素对枸杞枝条粉基质发酵中木质纤维素含量的影响

Tab. 3 Effects of different factors on cellulose content of wolfberry branch substrate in fermentation

因素	纤维素质量分数/%		纤维素 降解率/%	半纤维素质量分数/%		半纤维素 降解率/%	木质素质量分数/%		木质素 降解率/%	
	发酵前	发酵后		发酵前	发酵后		发酵前	发酵后		
翻堆温度	70 $^{\circ}$ C	44.38	36.72 $\pm$ 0.22 <sup>ab</sup>	17.26 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	21.66	16.63 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	23.22 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	21.42	18.87 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup>	11.90 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>
	60 $^{\circ}$ C	44.38	36.34 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>	18.12 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	21.66	16.20 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	25.21 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	21.42	18.45 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	13.87 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
	50 $^{\circ}$ C	44.38	37.56 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	15.37 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	21.66	17.35 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	19.90 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	21.42	19.02 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	11.20 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>
含水率	60%	44.38	35.85 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	19.22 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	21.66	16.20 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	25.21 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	21.42	18.38 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	14.19 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
	50%	44.38	36.75 $\pm$ 0.20 <sup>ab</sup>	17.19 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	21.66	16.73 $\pm$ 0.28 <sup>ab</sup>	22.76 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	21.42	18.85 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	12.00 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>
	40%	44.38	37.68 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>	15.10 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	21.66	17.29 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	20.18 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>	21.42	19.09 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	10.88 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>
微生物菌剂	锯末发酵菌剂	44.38	36.21 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>	18.41 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	21.66	16.65 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	23.13 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	21.42	18.51 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	13.59 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
	粗纤维降解菌	44.38	36.00 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	18.88 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	21.66	16.56 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	23.55 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	21.42	18.43 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	13.96 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
	堆肥发酵菌剂	44.38	37.29 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	15.98 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	21.66	16.92 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	21.88 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	21.42	18.85 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	12.00 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>
氮源类型	尿素	44.38	37.50 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	15.50 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	21.66	17.30 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	19.67 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	21.42	18.73 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	12.56 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>
	鸡粪	44.38	36.24 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	18.34 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	21.66	16.64 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	23.18 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	21.42	18.45 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	13.87 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>
	油饼	44.38	36.17 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	18.50 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	21.66	16.55 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	23.59 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	21.42	18.37 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	14.24 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>

注:不同小写字母表示在  $P < 0.05$  水平上差异显著,下同。

纤维素的降解,其中以温度为60℃、含水率为60%、添加油饼或鸡粪氮源及接种粗纤维素或锯末发酵菌效果较好。

## 2.2 平均颜色变化率

平均颜色变化率是表征微生物平均活性的一个指标,可以从功能代谢方面显示微生物群落结构多样性。由图1可看出,随着培养时间的延长,枸杞枝条基质微生物活性不断升高,自24 h起平均颜色变化率迅速升高。对比不同翻堆温度、含水率、微生物菌及氮源类型枸杞枝条基质中微生物平均颜色变化率发现,翻堆温度处理枸杞枝条基质微生物平均颜色变化率的最大值从大到小依次为60、50、70℃,含

水率处理枸杞枝条基质微生物平均颜色变化率的最大值从大到小依次为60%、50%、40%,微生物菌处理枸杞枝条基质微生物平均颜色变化率的最大值从大到小依次为粗纤维降解菌、锯末发酵菌剂、堆肥发酵菌剂,添加油饼氮源处理枸杞枝条基质微生物平均颜色变化率最大,添加尿素氮源处理枸杞枝条基质微生物平均颜色变化率最小,显著低于其他氮源类型。从不同处理枸杞枝条基质的平均颜色变化率变化可以看出,翻堆温度为60℃、含水率补充下限60%、接种粗纤维降解菌及添加油饼处理更有利于增加堆肥高温期时的微生物的活性,提高细胞代谢相关营养物质的能力。

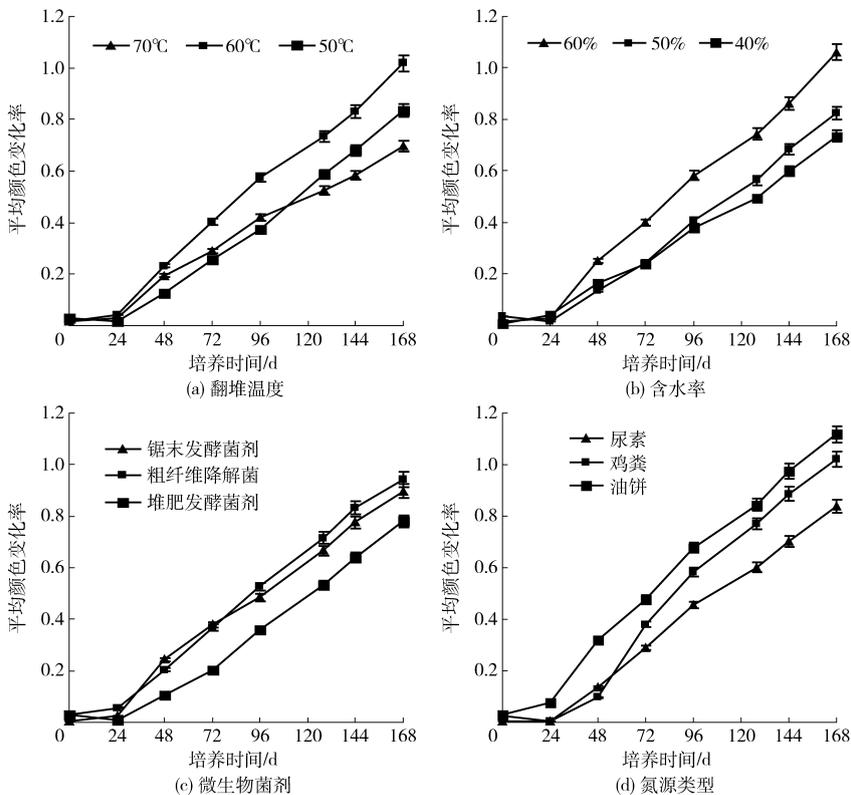


图1 高温期枸杞枝条粉基质的微生物平均颜色变化率变化

Fig. 1 Average well color development variations of wolfberry substrate by microorganism

## 2.3 群落多样性分析

香浓指数、优势度指数、丰富度指数是研究群落物种数及其个体数和分布均匀程度的综合指标,可以从不同侧面反映微生物群落代谢功能的多样性<sup>[20]</sup>。本文采用这3个指数来研究枸杞枝条基质化发酵中高温期堆体微生物群落对31种碳源利用的多样性,不同处理枸杞枝条粉基质中香浓指数、优势度指数、丰富度指数如表4所示。由表4可以看出,在不同翻堆温度中,温度60℃枸杞枝条粉发酵中堆体的香浓指数、优势度指数和丰富度指数最高,分别为2.326、0.941和20.33;在不同含水率处理中,含水率下限为60%枸杞枝条粉发酵中堆体的香浓指数、优势度指数和丰富度指数分别为2.321、

0.934和20.22,显著高于40%含水率处理;在接种不同微生物菌剂中,以接种粗纤维素降解菌和锯末发酵菌明显增加了高温期枸杞枝条粉发酵中堆体的微生物多样性,香浓指数、优势度指数和丰富度指数分别为2.365、0.930、18.78和2.324、0.927、18.56,显著高于接种堆肥发酵菌剂处理。在添加不同氮源中,以添加油饼和鸡粪明显增加了高温期枸杞枝条粉发酵中堆体的微生物多样性,香浓指数、优势度指数和丰富度指数分别为2.336、0.937、20.00和2.294、0.919、17.56,显著高于添加尿素氮源处理。说明控制好翻堆温度、含水率、接种粗纤维和锯末降解菌剂、添加油饼和鸡粪氮源增加了枸杞枝条粉堆体高温期的微生物多样性,有利于分解堆肥中的有

表 4 不同处理枸杞枝条粉基质中微生物群落多样性指数分析

Tab. 4 Index analysis of microbial community diversity for different wolfberry branches substrates

处理	香浓指数	优势度指数	丰富度指数
翻堆温度	70℃	2.298 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.931 ± 0.003 <sup>a</sup>
	60℃	2.326 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.941 ± 0.004 <sup>a</sup>
	50℃	2.211 ± 0.003 <sup>c</sup>	0.902 ± 0.002 <sup>b</sup>
含水率	60%	2.321 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.934 ± 0.004 <sup>a</sup>
	50%	2.278 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.920 ± 0.003 <sup>a</sup>
	40%	2.196 ± 0.005 <sup>c</sup>	0.894 ± 0.003 <sup>b</sup>
微生物菌剂	锯末发酵菌剂	2.324 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.927 ± 0.004 <sup>a</sup>
	粗纤维降解菌	2.365 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.930 ± 0.004 <sup>a</sup>
	堆肥发酵菌剂	2.221 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.891 ± 0.005 <sup>b</sup>
氮源类型	尿素	2.219 ± 0.003 <sup>b</sup>	0.892 ± 0.005 <sup>b</sup>
	鸡粪	2.294 ± 0.006 <sup>ab</sup>	0.919 ± 0.004 <sup>a</sup>
	油饼	2.336 ± 0.004 <sup>a</sup>	0.937 ± 0.002 <sup>a</sup>

机质,促进木质纤维素降解,促进枸杞枝条粉基质的腐熟。

### 2.4 各类碳源的利用特征

不同翻堆温度、含水率、微生物菌剂及氮源类型枸杞枝条基质中微生物对 6 类碳源的利用情况如图 2 所示。由图 2 可看出,高温期不同处理枸杞枝条基质化发酵堆体中微生物对 6 类碳源利用间存在差异,翻堆温度处理枸杞枝条基质微生物对羧酸、芳香化合物和胺类碳源的利用强弱顺序为 70℃、60℃、50℃,对多聚化合物、碳水化合物及氨基酸类碳源的利用强弱顺序为 60℃、70℃、50℃,处理间存在显著差异;含水率处理枸杞枝条基质微生物对羧酸碳源的利用强弱顺序为 50%、60%、40%,对多聚

化合物、氨基酸、碳水化合物及芳香化合物类碳源的利用强弱顺序为 60%、50%、40%,处理间存在显著差异,对胺类碳源的利用影响不显著;接种不同微生物菌剂枸杞枝条基质微生物对羧酸碳源的利用强弱顺序为堆肥发酵菌剂、锯末发酵菌、粗纤维素降解菌,对多聚化合物、碳水化合物及氨基酸类碳源的利用强弱顺序为粗纤维素降解菌、锯末发酵菌剂、堆肥发酵菌剂,处理间存在显著差异,芳香化合物类碳源的利用强弱顺序为锯末发酵菌、粗纤维素降解菌、堆肥发酵菌剂,处理间存在显著差异,对胺类碳源的利用影响不显著;氮源类型对堆体中微生物对羧酸类碳源的利用情况差异显著,强弱顺序为:尿素、油饼、鸡粪,对多聚化合物、碳水化合物、氨基酸类碳源的

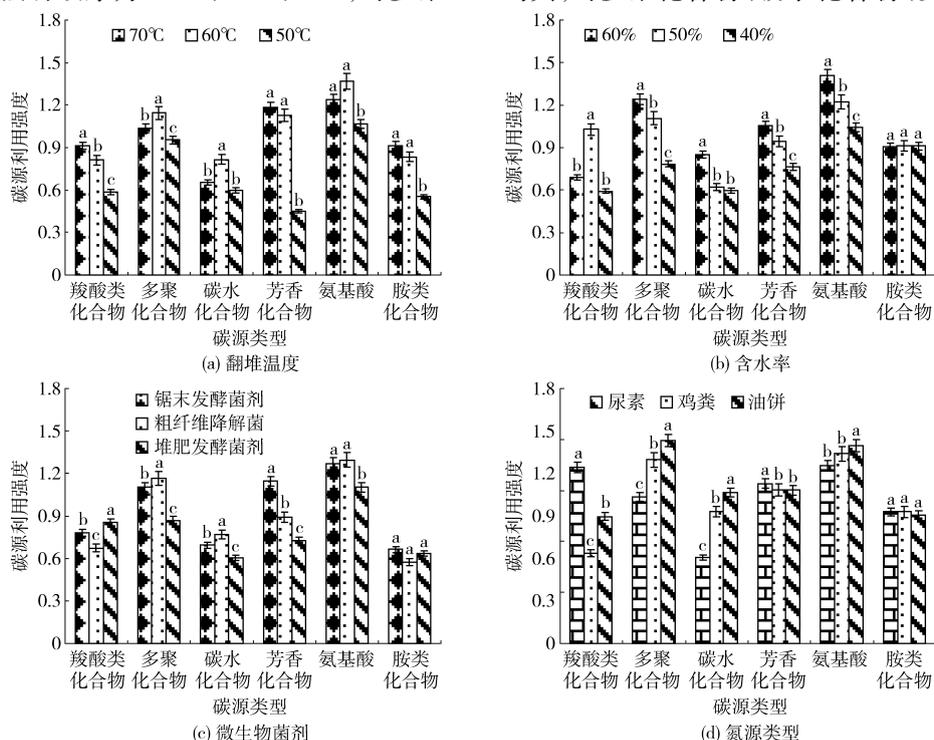


图 2 枸杞枝条粉基质发酵高温期中微生物对 6 类碳源的利用

Fig. 2 Utilization of wolfberry substrate microorganism on carbon sources of the six group during high temperature period

利用也存在明显差异,强弱顺序为:油饼、鸡粪、尿素,对芳香化合物和胺类碳源的利用无显著差异。说明添加尿素氮源处理枸杞枝条基质中微生物对羧酸类、芳香类和胺类碳源相对利用较高,对多聚化合物、碳水化合物和氨基酸类的利用能力减弱,翻堆温度 60℃、含水率 60%、接种粗纤维降解菌剂和添加油饼氮源处理对多聚化合物、碳水化合物和氨基酸类的利用能力较强。

### 3 讨论

我国农业生物质资源种类繁多、来源广泛、富含大量木质纤维素,且这类物质具有结构坚硬、分解困难的特性,每年约有 70 万 t 农林秸秆固体废物被丢弃。堆肥(基质化)处理是较为普遍且有效地处理有机固体废弃物以及畜禽粪便的方法之一<sup>[21]</sup>,好氧高温堆肥(基质化)是一种经济、环保的生物学木质纤维素降解方法,木质纤维素的降解速率在一定程度上制约着堆肥的发酵周期。本试验中,发酵结束时,枸杞枝条基质纤维素、半纤维素和木质素质量分数均低于处理前,纤维素降解率在 15% 以上,半纤维素降解率在 19% 以上,木质素降解率在 10% 以上,调节好适宜翻堆温度、含水率、接种微生物菌、氮源有利于枸杞枝条粉木质纤维素的降解,其中以温度为 60℃、含水率为 60%、添加鸡粪氮源及接种粗纤维素降解菌处理枸杞枝条基质木质纤维素降解率较高。这与徐杰等<sup>[22]</sup>在以牛粪和水稻秸秆为主要原料共发酵、贺新生等<sup>[23]</sup>以稻草秸秆为主要原料和 BEMAL 等<sup>[24]</sup>接种菌剂处理提高木质纤维素降解率研究结果一致。

堆肥(基质化)的实质是微生物分解和转化有机物的生化代谢过程,其中微生物群落的代谢能力是影响有机物减量化、资源化的关键因素<sup>[25-26]</sup>,研究微生物群落代谢特征可以揭示堆肥(基质)化过程中的有机物降解机制及优化堆肥(基质化)工艺<sup>[27]</sup>。平均颜色变化率是表示微生物的平均活性的指标之一,反映了微生物对碳源的利用能力<sup>[28]</sup>,从功能代谢方面显示了微生物群

落结构多样性。本试验中,翻堆温度、含水率、接种微生物菌及添加氮源条件下枸杞枝条基质微生物活性随着培养时间的延长而不断升高,以翻堆温度为 60℃、含水率为 60%、接种粗纤维降解菌及添加油饼处理微生物群落代谢的平均颜色变化率在整个培养期中均最高,分别为 1.019、1.062、0.943 和 1.117,此处理微生物多样性香浓指数、优势度指数和丰富度指数较高,显著高于其他条件下的相应值,说明控制好翻堆温度、含水率、接种粗纤维降解菌剂、添加油饼氮源有利于增加枸杞枝条基质高温期的微生物的活性和多样性,提高了对部分碳源的代谢能力。这与史龙翔等<sup>[29]</sup>以猪粪和果树枝条为原料,接种复合菌剂显著提高堆肥中微生物的平均颜色变化率研究结果一致。与 FRANCESCO 等<sup>[30]</sup>以家庭动物源的厨房废弃物为原料,添加填充剂堆肥表型微生物多样性提高研究结果相似。

### 4 结论

(1)从枸杞枝条基质的木质纤维素降解来看,发酵结束时,枸杞枝条基质纤维素、半纤维素和木质素质量分数均低于处理前,纤维素降解率在 15% 以上,半纤维素降解率在 19% 以上,木质素降解率在 10% 以上,适宜翻堆温度、含水率、接种微生物菌、氮源有利于枸杞枝条粉木质纤维素的降解,其中以温度为 60℃、含水率为 60%、添加鸡粪氮源及接种粗纤维素降解菌处理枸杞枝条基质木质纤维素降解率较高,效果较好。

(2)从枸杞枝条基质发酵高温期的微生物群落结构多样性特征来看,翻堆温度为 60℃、含水率为 60%、接种粗纤维降解菌及添加油饼处理提高了枸杞枝条基质高温期的微生物的平均颜色变化率,增加了枸杞枝条粉堆体高温期的微生物活性和多样性,提高微生物对部分碳源的代谢能力,如多聚化合物、碳水化合物和氨基酸类等,有利于分解枸杞枝条基质化发酵中的有机质,促进枸杞枝条粉基质木质纤维素降解和腐熟。

### 参 考 文 献

- 1 杨毅. 农业废弃物资源化利用浅谈[J]. 科技视界, 2016(27):431.
- 2 李鹏,张俊彪. 农业生产废弃物循环利用绩效测度的实证研究—基于三阶段 DEA 模型的农户基质化管理[J]. 中国环境科学, 2013,33(4):754-761.  
LI Peng, ZHANG Junbiao. Empirical studies of agricultural production waste recycling efficiency: based on peasant household substrate management with three-stage DEA model[J]. China Environmental Science, 2013,33(4):754-761. (in Chinese)
- 3 冯海萍,杨志刚,杨冬艳,等. 枸杞枝条基质化发酵工艺及参数优化[J]. 农业工程学报, 2015,31(5):252-260.  
FENG Haiping, YANG Zhigang, YANG Dongyan, et al. Optimization substrate of wolfberry shoots for fermentation and parameters [J]. Transactions of the CSAE, 2015,31(5):252-260. (in Chinese)
- 4 冯海萍,曲继松,杨冬艳,等. C/N 比对枸杞枝条基质化发酵堆体腐熟效果的影响[J]. 新疆农业科学, 2014, 56(6):1112-

1119.  
FENG Haiping, QU Jisong, YANG Dongyan, et al. Effects of C/N ratio on nutrient changes and maturity index of wolfberry branches fermentation for substrate production[J]. Xinjiang Agricultural Science, 2014, 56(6):1112-1119. (in Chinese)
- 5 冯海萍, 曲继松, 杨冬艳, 等. 接种微生物菌剂对枸杞枝条基质化发酵品质的影响[J]. 环境科学学报, 2015, 35(5):1457-1463.  
FENG Haiping, QU Jisong, YANG Dongyan, et al. Effects of inoculation microbial agent on fermentation quality of wolfberry branches for substrate production[J]. Journal of Environmental Science, 2015, 35(5):1457-1463. (in Chinese)
- 6 陈世和, 张所明. 城市垃圾堆肥原理与工艺[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1990:28-40.
- 7 孙江慧. 几株食用菌对秸秆木质纤维素降解能力的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.  
SUN Jianghui. Several strains of edible fungus research on straw lignocellulose degradation ability[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012. (in Chinese)
- 8 高福平. 循环农业中农业废弃物的再生利用[J]. 农学学报, 2008(2):66-68  
GAO Fuping. Circular agriculture in the recycling of agricultural waste[J]. Journal of Agriculture, 2008(2):66-68. (in Chinese)
- 9 冯宏, 张新明, 李华兴, 等. 接种菌剂对堆肥微生物利用碳源能力的影响[J]. 华南农业大学学报, 2005, 26(4):19-22.  
FENG Hong, ZHANG Xinming, LI Huaxing, et al. Effects of microbial inoculant agent to carbon source of compost[J]. Journal of South China Agricultural University, 2005, 26(4):19-22. (in Chinese)
- 10 FENG Chongling, ZENG Guangming, HUANG Danlian, et al. Effect of ligninolytic enzymes on lignin degradation and carbon utilization during lignocellulosic waste composting[J]. Process Biochemistry, 2011, 46(7):1515-1520.
- 11 刘月. 功能菌剂对堆肥中木质纤维素降解及微生物多样性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.  
LIU Yue. The functions of the composting inoculants lignocellulose degradation and the effect of microbial diversity[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- 12 HUANG Danlian, ZENG Guangming, JIANG Xiaoyun, et al. Bioremediation of Pb-contaminated soil by incubating with *Phanerochaete chrysosporium* and straw[J]. Journal of Hazardous Materials, 2006, 134(1):268-276.
- 13 冯冲凌, 曾光明, 黄丹莲, 等. 基于 Biolog 解析添加酶液对堆肥化过程中微生物群落代谢的影响[J]. 环境科学, 2009, 30(10):3016-3021.  
FENG Chongling, ZENG Guangming, HUANG Danlian, et al. Based on Biolog parsing adding enzyme liquid effects on microbial community in the composting process[J]. Environmental Science, 2009, 30(10):3016-3021. (in Chinese)
- 14 邹春娇, 齐明芳, 马建, 等. Biolog-ECO 解析黄瓜连作营养基质中微生物群落结构多样性特征[J]. 中国农业科学, 2016, 49(5):942-951.  
ZOU Chunjiao, QI Mingfang, MA Jian, et al. Analysis of soil microbial community structure and diversity in cucumber continuous cropping nutrition medium by Biolog-ECO[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(5):942-951. (in Chinese)
- 15 刘文静, 潘葳, 任丽花. FIBERTEC 2010 半自动纤维分析仪测定饲料中纤维素、半纤维素、木质素的方法研究[J]. 福建农业学报, 2013, 28(7):722-726.  
LIU Wenjing, PAN Wei, REN Lihua. Determination of cellulose, hemicellulose, and lignin in feed by FIBERTEC 2010 semi-automatic fiber analyzer[J]. Journal of Fujian Agriculture, 2013, 28(7):722-726. (in Chinese)
- 16 CHOI K, DOBBS F C. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among a quatic microbial communities[J]. Journal of Microbiological Methods, 1999, 36(3):2030-2031.
- 17 SHANNON C E. A mathematical theory of communication[J]. ACM SIGMOBILE: Mobile Computing and Communications Review, 2001, 5(1):53-55.
- 18 ROGERS B F, TATE R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(10):1389-1401.
- 19 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, 47.  
YANG Yonghua, YAO Jian, HUA Xiaomei. Effects of pesticide pollution against functional microbial diversity in soil[J]. Journal of Microbiology, 2000, 20(2):23-25, 47. (in Chinese)
- 20 KONG Xin, WANG Can, JI Min. Analysis of microbial metabolic characteristics in mesophilic and thermophilic biofilters using Biolog plate technique[J]. Chemical Engineering Journal, 2013, 230(15):415-421.
- 21 田伟, 张振华, 汪贞, 等. 牛粪高温堆肥过程中木质纤维素降解及相关生物学特性研究[J]. 浙江农业学报, 2014, 26(2):432-438.  
TIAN Wei, ZHANG Zhenhua, WANG Zhen, et al. Cow dung in the process of high temperature compost lignocellulose degradation and related biological characteristics research[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2014, 26(2):432-438. (in Chinese)
- 22 徐杰, 许修宏, 刘月, 等. 添加菌剂对堆肥化过程中微生物群落代谢影响的 Biolog 解析[J]. 南京理工大学学报, 2014, 38(1):181-186.  
XU Jie, XU Xiuhong, LIU Yue, et al. Analysis of effect of inocula on microbial community metabolic profiles during composting using Biolog method[J]. Journal of Nanjing University of Science and Technology, 2014, 38(1):181-186. (in Chinese)
- 23 贺新生, 杨朝惠, 赵春花, 等. 三种白腐菌对木质纤维素降解规律的初步研究[J]. 纤维素科学与技术, 2012, 20(1):33-38.  
HE Xincheng, YANG Zhaohui, ZHAO Chunhua, et al. Three kinds of white-rot fungus preliminary study of the law of lignocellulose degradation[J]. Journal of Cellulose Science and Technology, 2012, 20(1):33-38. (in Chinese)
- 24 BEMAL M P, ALBURQUERQUE J A, MORAL R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(22):5444-5453.

- 26 LI X, KERRIGAN J, CHAI W, et al. *Botrytis caroliniana*, a new species isolated from blackberry in South Carolina[J]. *Mycologia*, 2012, 104(3): 650 – 658.
- 27 雷百战, 李国英, 石在强. 葡萄灰霉病原鉴定和生物学特性研究[J]. 石河子大学学报, 2004, 22(增刊): 145 – 149.  
LEI Baizhan, LI Guoying, SHI Zaiqiang. Identification and biological characteristics of the pathogen of *Botrytis cinerea* on grape [J]. *Journal of Shihezi University*, 2004, 22(Supp.): 145 – 149. (in Chinese)
- 28 陈长卿, 张博, 杨丽娜, 等. 越橘灰霉病原菌鉴定及其生物学特性研究[J]. 吉林农业大学学报, 2012, 34(5): 511 – 516.  
CHEN Changqing, ZHANG Bo, YANG Li'na, et al. Identification and biological characteristics of pathogenic *Bacteria* of blueberry gray mold[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2012, 34(5): 511 – 516. (in Chinese)
- 29 柯仿钢, 黄思良, 付岗, 等. 西贡蕉枯萎病生防木霉菌株 *gz-2* 的鉴定及生物学特性研究[J]. 西南农业学报, 2010, 23(5): 1533 – 1539.  
KE Fanggang, HUANG Siliang, FU Gang, et al. Identification and biological characteristics of *Trichodermastrain* in *gz-2*, abiocontrol agent against Saigon banana Fusarium wilt[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Science*, 2010, 23(5): 1533 – 1539. (in Chinese)
- 30 林月莉. 陕西省苹果轮纹病菌的致病性分化及其对果实的侵染过程研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.  
LIN Yueli. Study on the differentiation of pathogenicity and infection process on fruits of *Botryosphaeria dothidea* in Shaanxi[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2010.
- 31 王艳娜. 鸭梨果实轮纹病寄生-病原菌互作机理[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2007.  
WANG Yanna. Interaction of host-pathogen on 'Ya' pear ring rot disease[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2007. (in Chinese)
- 32 李广旭, 沈永波, 高艳敏, 等. *Botryosphaeriadothidea* 在苹果果实上的侵染过程[J]. 果树学报, 2006, 23(1): 69 – 72.  
LI Guangxu, SHEN Yongbo, GAO Yanmin, et al. Infection process of *Botryosphaeriadothidea* in apple fruit[J]. *Journal of Fruit Science*, 2006, 23(1): 69 – 72. (in Chinese)
- 33 胡美皎. 芒果果实潜伏侵染 *Botryodiplodiathobromae* 致腐机理及蒂腐病防治技术基础研究[D]. 海口: 海南大学, 2013.  
HU Meijiao. Study on latent infection, pathogenic mechanism of *Botryodiplodiathobromae* and control for stem-end rot of mango fruit[D]. Haikou: Hainan University, 2013. (in Chinese)

(上接第 319 页)

- 25 YU Hongyan, ZENG Guangming, HUANG Danlian, et al. Microbial community succession and lignocellulose degradation during agricultural waste composting[J]. *Biodegradation*, 2007, 18(6): 793 – 802.
- 26 DIGNAC M F, HOUOT S, FRANCOU C, et al. Pyrolytic study of compost and waste organic matter[J]. *Organic Geochemistry*, 2005, 36(7): 1054 – 1071.
- 27 ZENG Guangming, HUANG Danlian, HUANG Guohe, et al. Composting of lead contaminated solid waste with inocula of white-rot fungus [J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(2): 320 – 326.
- 28 郑丽萍, 龙涛, 林玉锁, 等. Biolog – ECO 解析有机氯农药污染场地土壤微生物群落功能多样性特征[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(5): 759 – 765.  
ZHENG Liping, LONG Tao, LIN Yusuo, et al. Biolog – ECO analysis of microbial community functional diversity on organochlorine contaminated soil[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2013, 19(5): 759 – 765. (in Chinese)
- 29 史龙翔, 谷洁, 潘洪加, 等. 复合菌剂提高果树枝条堆肥过程中酶活性[J]. 农业工程学报, 2015, 31(5): 244 – 251.  
SHI Longxiang, GU Jie, PAN Hongjia, et al. Improving enzyme activity by compound microbial agents in compost with mixed fruit tree branches and pig manure during composting[J]. *Transactions of the CSAE*, 2015, 31(5): 244 – 251. (in Chinese)
- 30 FRANCESCO S, JOSEBA S. Arizmendiarrieta, ignacio irigoyenmeat waste as feedstock for home composting: effects on the process and quality of compost[J]. *Waste Management*, 2016, 7(4): 22 – 26.