



玉米浆对大球盖菇培养料发酵的影响

姬快乐,高莹,贾晓桐,孙宁,王萌萌,吴瑕,
赵立琴,范博文,杨凤军

(黑龙江八一农垦大学 园艺园林学院,黑龙江大庆 163319)

摘要 通过解析工业废弃物玉米浆代替尿素作为补充氮源对大球盖菇培养料发酵过程中理化性质和细菌微生物的影响,以期揭示玉米浆影响培养料发酵过程的生物学机制。试验以玉米秸秆为发酵原材料,以添加玉米浆作为补充氮源为试验组(CS)、以添加尿素为对照(CK),共设两个处理,建堆发酵制作大球盖菇培养料;在发酵过程0 d、3 d、6 d、9 d测定发酵过程中培养料的理化性质,在发酵的3 d(高温期)进行16S rRNA高通量测定发酵堆体的细菌群落结构,并进行理化因子与微生物相关性分析。结果表明添加玉米浆影响堆体发酵的理化性质,使发酵堆体更快地达到高温期,并延长高温持续时间,提高堆体发酵时的温度、pH、电导率以及全氮含量,加快玉米秸秆的分解速度,促进培养料的发酵进程。由高温期的细菌群落丰度变化可知,添加玉米浆能够促进变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)和厚壁菌门(Firmicutes)生长,同时抑制拟杆菌门(Bacteroidota)生长;鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和不动杆菌属(*Acinetobacter*)相对丰度显著降低;芽孢杆菌属(*Bacillus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、藤黄色单胞菌属(*Luteimonas*)和螯台球菌属(*Chelatococcus*)等成为优势菌属。芽孢杆菌属(*Bacillus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)与pH、电导率、体积质量显著正相关;海藤黄色单胞菌属(*Luteimonas*)和螯台球菌属(*Chelatococcus*)与全氮显著正相关。在秸秆发酵制备大球盖菇培养料的过程中,工业废弃物玉米浆可代替尿素作为大球盖菇培养料的补充氮源,添加玉米浆也使培养料的理化性质及其内部微生物群落的丰度组成发生改变,在一定程度上促进氮循环,更有利于秸秆建堆发酵。

关键词 玉米浆;氮源;发酵;细菌群落

秸秆基料化是综合利用农业废弃物秸秆的一种有效方式,对保护环境、提高资源利用率都有重大意义^[1]。大球盖菇(*Pleurotus ostreatus*)作为一种珍稀的食药菌,营养成分较高,种植效益较好。其管理粗放、产量大的特点深受菇农喜爱。大球盖菇栽培基质以农作物秸秆为原料,经过堆积发酵制备而成。农作物秸秆中含有大量的纤维素、半纤维素、木质素和蛋白质等有机物质^[2],能为大球盖菇生长提供充足的碳源和氮源,但由于农作物秸秆过高的C/N,因此不利于微生物的繁殖,进而影响培养料的发酵速度。为加快发酵进程,秸秆基质发酵前需通过添加外源氮的方式将发酵料初始过高的C/N调节到适合微生物生长

的范围^[3]。微生物是基质发酵过程中的主导因素和驱动力,发酵料中的有机残体在微生物的作用下发生矿化分解。在好气条件下,易分解的单糖、淀粉、简单蛋白质和氨基酸等首先被降解,产生大量的CO₂、H₂O、NH₄⁺及其他无机盐离子;纤维素、半纤维素、脂肪、蜡质和木质素等不易降解的物质在矿化过程中分解为多元酚、氨基酸和多肽等中间产物,为腐殖质的合成提供物质基础^[4]。有机物在矿化过程中会释放大量的热量,使堆体温度升高。堆制的不同阶段,由于微生物群落结构及活性不同,导致堆体温度及其他理化性状发生相应的变化。堆体温度一般呈先升后降的趋势^[5]。苏鹏伟等^[6]研究发现,在堆肥过程中总有

收稿日期:2022-01-12 修回日期:2022-04-01

基金项目:国家自然科学基金(31801905);黑龙江省蔬菜现代农业产业技术协同创新体系资助项目(HNWXJTX202001);大庆市科技局成果转化项目(DQKJZH2021-2);黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目(UNPYSC2020042);研究生创新科研项目(YJSCX2021-Y117)。

第一作者:姬快乐,男,硕士研究生,研究方向为园艺作物生理生态、微生物。E-mail:1292500799@qq.com

通信作者:杨凤军,男,教授,硕士生导师,研究方向为园艺作物生理生态、微生物。E-mail:Yangfengjun@126.com

机碳含量下降,全氮含量上升;张静美等^[7]研究发现,堆体 pH 整体呈现上升趋势。此外,水分含量、体积质量和碳氮比等均对发酵进程产生影响^[8-9]。

玉米浆(Corn slurry)是工业湿法加工玉米淀粉的副产物之一^[10],在玉米淀粉生产过程中,为加快淀粉的释放速度,加工前使用亚硫酸钠溶液浸泡玉米粒,浸泡液经浓缩后得到的粘稠液体即为玉米浆^[11]。玉米浆中富含可溶性糖类、可溶性蛋白质、多肽(以二肽为主)、游离氨基酸、脂肪酸、维生素、肌醇、水解酶等有机化合物及其无机离子^[12],是微生物发酵的良好氮源。玉米浆作为生产抗生素、有机酸和其他发酵产品培养基源料已得到广泛应用,如李晶等^[13]的研究表明将玉米浆发酵液加入杏鲍菇的培养料中可显著提高杏鲍菇的产量及生物学转化效率;而使用玉米浆发酵液替代传统杏鲍菇培养料中的氮源,可使杏鲍菇的营养价值得到显著提高^[14];马丽峰等^[15]的研究表明,在金针菇的栽培基质中加入玉米浆可有效缩短其栽培周期,提高产量和品质。但添加玉米浆对食用菌培养料发酵过程中理化性质变化的研究未见报道。

本研究旨在探讨玉米浆对大球盖菇玉米秸秆基料发酵进程的影响,明确发酵过程中基质理化

性质的变化规律,揭示添加玉米浆对高温阶段微生物群落结构及多样性影响,识别核心产热代谢微生物的差异,分析理化性质与细菌群落和生物代谢间的关系,为阐明玉米浆对玉米秸秆发酵中作用提供参考,对农业废弃物资源化利用具有重要价值。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

玉米秸秆来源于黑龙江省大庆市大同区玉米田,新鲜无霉变。玉米浆来自于黑龙江八一农垦大学食品学院,尿素为市售材料。

1.2 试验设计与样品采集

试验于 2020 年 9 月在中国黑龙江八一农垦大学实验基地进行,为期 9 d。将玉米秸秆切为长度 2~3 cm 的秸秆段备用。试验共设两个处理,CK 处理为 50 kg 玉米秸秆中添加 0.25 kg 的尿素;CS 处理为 50 kg 玉米秸秆中添加 4.45 kg 玉米浆,通过添加以上两种不同外源氮使两处理初始 C/N 相同。混合料以 1.5 m×1.5 m×1.5 m 的锥形堆进行建堆发酵。每天测量堆体内温度和环境温度,在发酵过程中高温期(3 d)翻堆 1 次,堆体物料基本理化性质详见表 1。

表 1 原材料成分含量($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Content of raw materials

材料 Material	总有机碳/ (g·kg ⁻¹) TOC	全氮/ (g·kg ⁻¹) TN	C/N	pH	NH ₄ ⁺ -N/ (g·kg ⁻¹)	NO ₃ ⁻ -N/ (g·kg ⁻¹)
玉米秸秆 Corn stover	487.37±25.82	6.38±0.12	76.44±5.43	6.51±0.13	0.12±0.01	2.34±0.02
玉米浆 Corn slurry	119.46±5.08	23.84±2.90	5.70±0.58	5.66±0.59	1.26±0.04	3.17±0.24
尿素 Urea	—	424.00±0.10	—	7.05±0.15	—	—

1.3 样品采集与指标测定

在第 0、3、6、9 天采集发酵堆体样品,在 3 个深度(距堆体表面 10 cm、30 cm、60 cm 处)的 6 个不同点进行随机取样,并均匀混合,样品风干用于理化性质测定;同样方法另取第 3 天(高温期)样品,经液氮冷冻后存于-80℃冰箱,用于后期高通量测序。

利用有记忆存储功能的美信自动温度记录仪 DS192X 测量堆体和环境温度;含水率通过烘箱在 105℃下将样品烘干至恒量来测定;体积质量参照 DB22/T 2420-2015 方法测定^[16];pH 和电导率值利用 pH 测定仪和电导率测定仪测定^[17];总碳(TOC)和全氮(TN)含量的测定分别使用外加热重铬酸钾容量法和微量凯氏法测定^[18];铵态氮

通过 KCl 浸提-靛酚蓝比色法进行测定^[19];对第 3 天(高温期)样品送至美吉生物科技有限公司进行建库测序。通过对样本进行 Miseq 测序得到的 PE reads 根据 overlap 关系进行拼接,同时对序列质量进行质控和过滤,区分样本后进行 OTU 聚类分析和物种分类学分析,进行绘制门与属水平上物种分布的柱状图,并计算每个样本中 Alpha 多样性指数,Alpha 多样性指数包括能够反映物种群落丰富度的 ACE 指数和 Chao1 指数,以及能够反映物种群落多样性的 Shannon 指数和 Simpson 指数。

1.4 数据处理与分析

采用 SPSS 21.0 对试验数据进行统计分析, Duncan's 多重比较和 T 检验分析不同处理的影

响差异,采用 Origin 2019b 64Bit 软件进行绘图,结构方程模型采用 Amos 24.0 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 发酵过程中培养料理化性状的变化

2.1.1 物理性状 如图 1 所示,CK 与 CS 处理温度均在第 1.5 天进入第一个高峰,但 CS 处理升温快,且高温期持续时间更长。CS 处理最高温度达到 53.17 °C,在第 1 天达到高温期(50 °C),持续近 4 d;而 CK 的最高温度为 48.33 °C,低于 CS 处理。

堆制始期(第 0 天)CK 和 CS 处理含水率相近,均在 59%左右;第 3 天含水率降低至 56%左右,CS 处理比 CK 降幅更大;之后 CS 处理含水率

持续增加,到第 9 天达到 61%,CK 含水率在第 6 天达最大值,第 9 天含水率降到最低水平(56%)。

两堆体体积质量在前 3 d 显著提高,第 6 天至第 9 天略低于第 3 天,但降幅很小,两处理差异不显著。

2.1.2 化学性状 由图 1 可知,从第 0 天~第 9 天,CK 与 CS 处理的总有机碳含量(TOC)呈下降趋势,且二处理间差异不显著;而二者的全氮(TN)含量却呈上升趋势,导致 C/N 比降低。CS 处理的电导率总体呈上升趋势,第 9 天的电导率为 2 630 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$,比第 0 天提高 34.8%;CK 处理的电导率总体呈下降趋势,第 9 天的电导率为 1 630 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$,低于第 0 天(1 810 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$)。

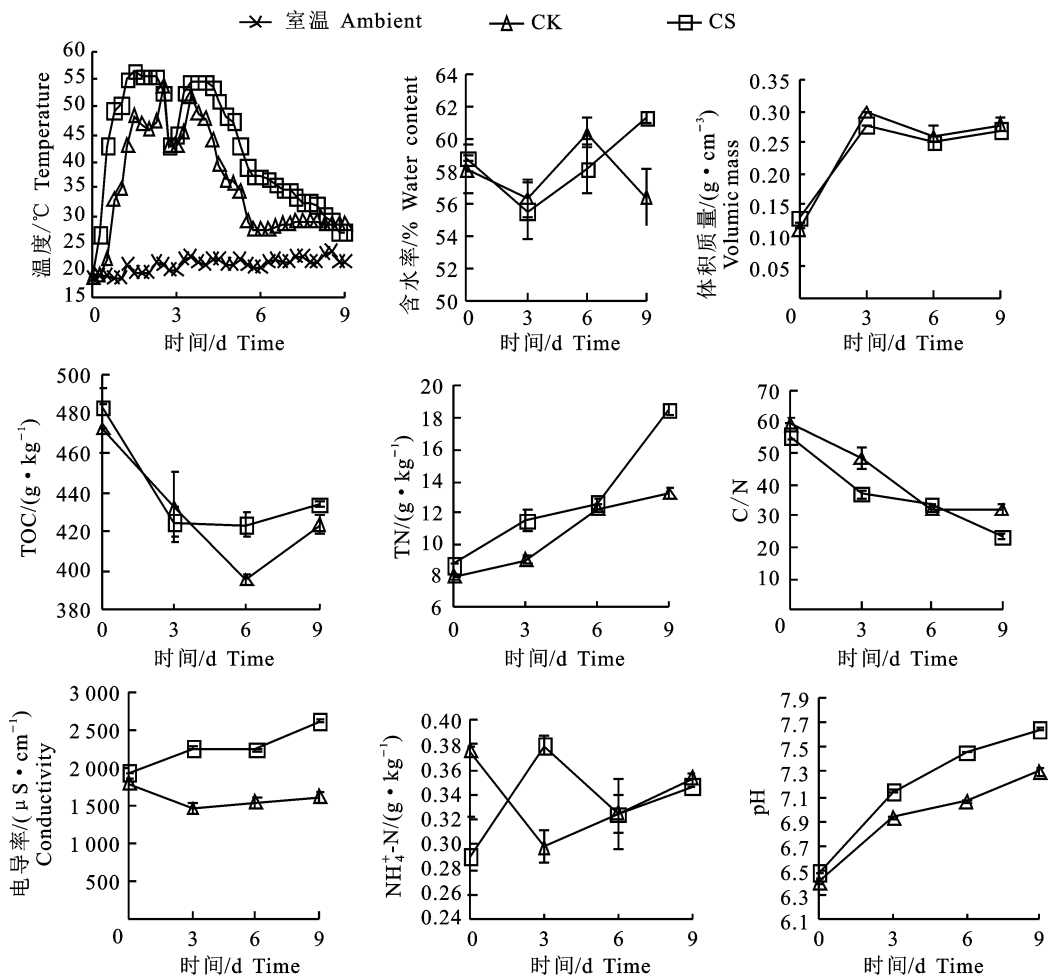


图 1 两种发酵处理中培养料理化指标的变化

Fig. 1 Changes of physicochemical indexes of culture dishes in two fermentation treatments

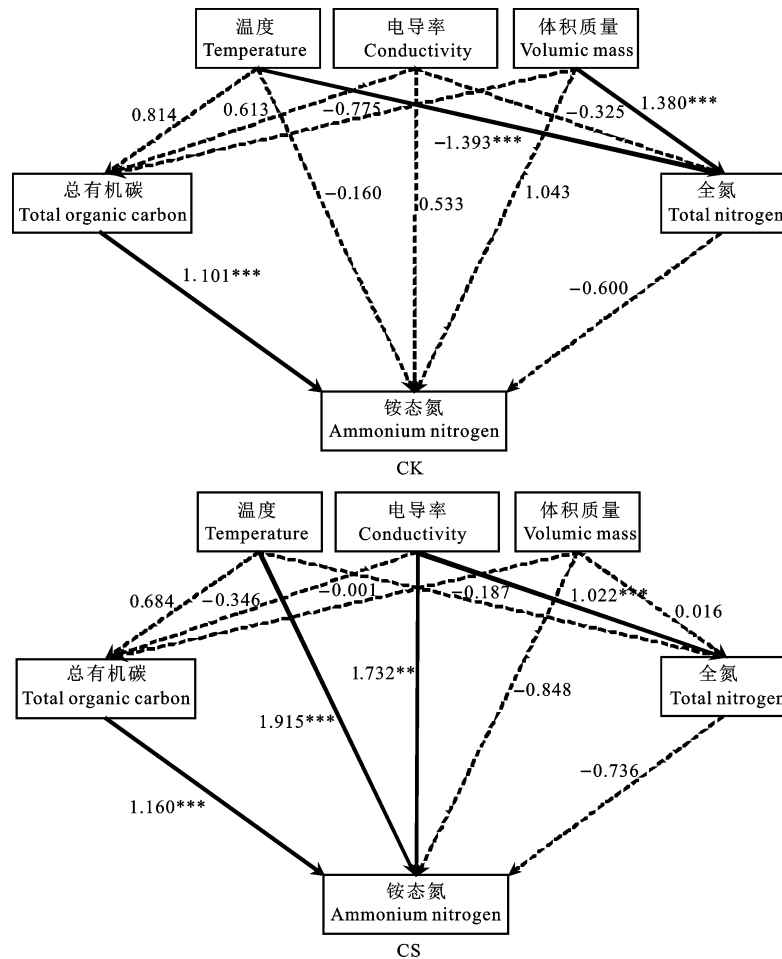
从整个发酵进程来看,CK 处理的铵态氮含量总体呈下降趋势,至第 9 天时,铵态氮含量为 0.35 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,低于初始的铵态氮含量(0.38

$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$),但二者差距不大;而 CS 处理的铵态氮含量总体呈上升趋势并在第 3 天达到峰值(0.38 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。在发酵进程中,CK 与 CS 处理 pH 均

呈提高的趋势,且 CS 处理始终高于 CK,第 0 天两处理 pH 相近,第 9 天 CK 和 CS 处理 pH 分别提高到 7.31 和 7.65。补充氮源的种类不同,使得堆体内微生物群落的组成有所差异,导致了两处理理化性质也存在一定差异。

2.1.3 理化因子之间的相互作用 图 2 为 CK 与 CS 处理的结构方程模型,在 CK 中 $x^2 = 2.480$, $df = 1$, $GFI = 0.937$; 在 CS 处理中 $x^2 = 0.023$, $df = 1$, $GFI = 0.999$ 。(GFI: Goodness

of Fit Index 拟合指数; df : Degrees of Freedom 自由度)。从结构方程模型可知,与 CK 相比,添加玉米浆作为补充氮源使得理化性质间的关系发生了改变。在 CK 处理中,温度对全氮具有显著的负面影响,体积质量对全氮具有显著的正面影响,总有机碳对铵态氮具有显著的正面影响。在 CS 处理中,温度、电导率对铵态氮具有显著的正面影响,电导率对全氮具有显著的正面影响,总有机碳对铵态氮具有显著的正面影响。



实线和虚线箭头分别表示显著和不显著的关系。与箭头相邻的数字是标准化的路径系数,类似于相对回归权重,并指示关系的效应大小。箭头宽度与关系的强度成正比。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。模型拟合状况良好。GEI > 0.9, 则代表模型拟合状况良好

Solid and dashed arrows indicate significant and non-significant relationships, respectively. The numbers adjacent to the arrows are normalized path coefficients, which are similar to relative regression weights, and indicate the effect size of the relationship. The arrow width is proportional to the strength of the relationship. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. GEI > 0.9 means that the model fits well

图 2 两种发酵堆内环境因子的结构方程模型

Fig. 2 Structural equation models of environmental factors in two fermentation reactors

2.2 高温期细菌群落变化

重复序列(不含单序列)进行 OTU 聚类,从 CK

2.2.1 细菌 OTU 变化 按照 97%相似性对非

处理和 CS 处理序列中分别获得约 471 个 OTU

和 393 个 OTU。韦恩图能够比较直观的反应出两个处理中细菌微生物群落组成相似性以及重叠情况。如图 3 所示,添加玉米浆的 CS 处理与 CK 处理之间共有 363 个相同的细菌 OTU。其中,CS 处理中含有特异的细菌 OTU 数量为 30 个,而 CK 中含有特异的细菌 OTU 数量为 108 个,约为 CS 处理中得 3.6 倍。

2.2.2 细菌微生物多样性 Alpha 多样性指数是反映单个样品的丰富度和均匀度的综合指标,有多个衡量指标。如表 2 所示,CK 处理的 Simpson 指数显著低于 CS 处理。而 CS 处理的 ACE, Chao1 和 shannon 指数与均显著低于对照,说明 CS 处理内微生物群落的丰富度比 CK 低。

2.2.3 细菌群落相对丰度的变化 从图 4 可知,两处理门水平上都鉴定出 4 个优势门,分别为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteriota)和厚壁菌门(Firmicutes),但不同处理的菌群丰度存在较大差异。在 CK 处理中占相对优势的菌门为变形菌门、拟杆菌门、放线菌门以及厚壁菌门,其相对丰度分别为 45.59%、33.4%、11.7%以及 7.39%。同样地,在 CS 处理中占主要优势的是变形菌门,相对丰度为 58.91%;其次是放线菌门、厚壁菌门和拟杆菌门,相对丰度分别为 24.11%、11.91%和 2.97%。在 CS 处理中,拟杆菌门相对丰度降

低,其余菌门相对丰度均有所增加。

2.2.4 高温期优势细菌菌属组成的差异 如图 5 所示,在高温期采集的样本中,鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和不动杆菌属(*Acinetobacter*)在 CK 中的相对丰度显著高于在 CS 处理中的相对丰度,为 CK 处理中的优势属。芽孢杆菌属(*Bacillus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、海藤黄色单胞菌属(*Luteimonas*)和螯合球菌属(*Chelatococcus*)在 CS 处理中的相对丰度显著高于其在 CK 中的相对丰度,为 CS 处理中的优势属。高温期细菌微生物在门和属水平上相对丰度的变化可能与玉米浆中含有较多的有机营养物质有关。

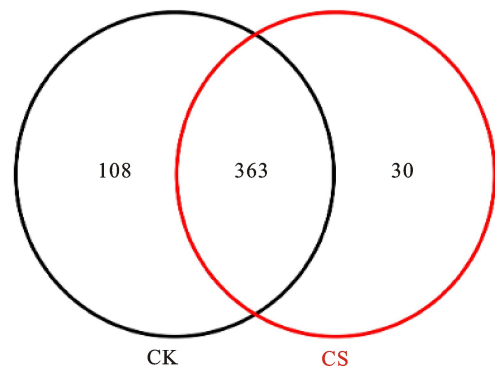


图 3 细菌微生物群落 OTU 的韦恩图

Fig. 3 Venn diagrams of bacterial microbial OTU

表 2 不同处理的细菌多样性指数($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Bacterial diversity index of different treatments

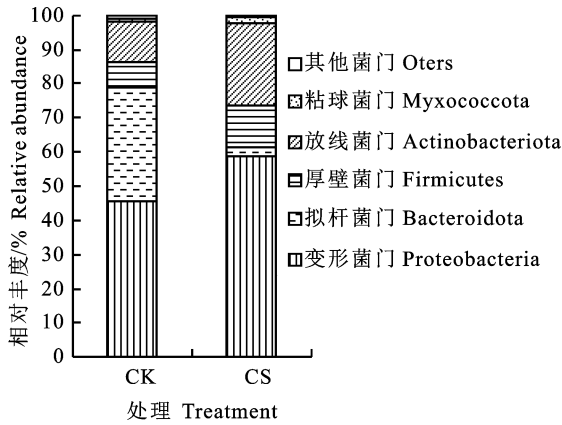
处理 Treatment	ACE	Simpson	Chao1	Shannon
CK	462.11±5.36 a	0.05±0.01 b	459.85±4.79 a	3.94±0.08 a
CS	373.52±12.00 b	0.13±0.01 a	372.86±18.46 b	3.14±0.07 b

2.3 理化性质与微生物间的关系

由表 3 可知,芽孢杆菌属、类芽孢杆菌属均属于厚壁菌门,两菌属与 pH、电导率显著正相关,与体积质量呈显著负相关。芽孢杆菌属和类芽孢杆菌属具有分解纤维素的能力,可以加快堆肥的反应进程。海藤黄色单胞菌属属于变形菌门,它与全氮显著正相关,与碳氮比显著负相关;其属于反硝化细菌,可在一定程度上提高堆体的全氮含量^[20]。链霉菌属属于放线菌门,与 pH、电导率呈显著正相关。橄榄形菌属与全氮呈显著负相关;与碳氮比呈显著正相关。其具有降解芳香族化合物功能^[21],在升温期大量繁殖,可分解物料中的纤维素及半纤维素,导致 C/N 发生变化。

3 讨论

在发酵过程中,生物分解物料中有机物的同时会产生大量的热量,温度是堆体发酵过程中一个非常重要的指标,微生物活动越旺盛,产热越多,进而堆体温度也越高^[22]。在发酵过程中,CS 处理的最高温度高于 CK 处理,且高温期持续时间更长,这可能与玉米浆的成分有关,玉米浆中含有多种易被降解的氨基酸、蛋白质和可溶性糖等有机成分,为微生物的繁殖提供最初的营养物质,促使微生物大量繁殖,进而加速植物残体的降解速度,因此产热越多。堆体在发酵第 3 天温度达到最高,高温导致水分大量蒸发,使堆体整体含水



相对丰度算法: $A/B \times 0.01$, A 代表这个样本某个属的克隆序列, B 代表在这个样本中所有属的克隆序列

Relative abundance algorithm: $A/B \times 0.01$, A represents the clone sequence of a genus in this sample, and B represents the clone sequence of all genera in this sample

图 4 细菌微生物在门分类水平上的群落结构
Fig. 4 Microbial community structure of bacteria at phylum level

量降低。堆体含水量极大地影响着堆体的通气状况(体积质量),进而影响微生物的活性和物料的降解速度。随着堆制过程的推进,发酵后期有机物被分解,微生物活动分解植物残体产生的大量 H_2O 因堆体不再高温而保留,未散发的水分使得堆体含水量升高;与 CK 相比,CS 处理由于其微生物活动旺盛,有机物分解更为彻底,分解过程中释放更多水分,导致 CS 处理堆体含水量持续增加;CK 处理在第 6 天堆体温度已经降到最低 ($28.5\text{ }^\circ\text{C}$),有机物分解速度变慢,有机物分解过程中产生的水分不在增加,但堆体表面水分蒸发

不可避免,导致第 9 天堆体含水率更低。

本研究中体积质量的变化趋势与 Rajpal 等^[23]的研究结果一致。造成这一现象的原因可能是新鲜蓬松的玉米秸秆变成半分解的有机物料,原有结构被破坏,使原本疏松的结构变得紧实。在本研究中,全氮含量一直呈上升趋势,这与苏鹏伟等^[24]的研究结果相似,这是由于玉米浆中含有大量含氮物质,矿化作用的速度相对缓慢,氮素挥发损失较少,且随着培养料中有机物质不断被分解,干物质含量不断下降,故造成单位干物质中全氮的相对含量增加。TOC 降低和电导率上升与堆体内有机物的降解有关,随着发酵进程的推进,大量有机物被分解,同时产生大量的无机盐,导致电导率升高。CS 处理铵态氮含量高的原因可能与堆体中含有大量的蛋白质态氮有关,玉米浆中含有大量的可溶性蛋白质态氮、氨基酸和水解酶,在氨化过程中产生大量的铵态氮,铵态氮促进有机氮的转化,酰胺态氮的作用次之^[25],而 CK 处理外源氮为尿素(酰胺态氮),有机氮降解相对缓慢;堆体 pH 升高可能与铵态氮的大量释放有关^[26]。

在本次研究中,变形菌门、放线菌门、厚壁菌门和拟杆菌门是发酵过程中最丰富的细菌菌群,这与 Meng 等^[27]的研究一致,它们代表总鉴定序列的 90% 以上的菌群群落。由于玉米浆中含有丰富的营养物质,为微生物的活动提供充足的能源,加速微生物对有机物的降解,导致 CS 处理比 CK 处理更早进入高温期,而放线菌群与厚壁菌群可在高温环境中具有良好的生存能力,因此 CS 处理与 CK 处理相比,能更好的降解木质纤维素。温

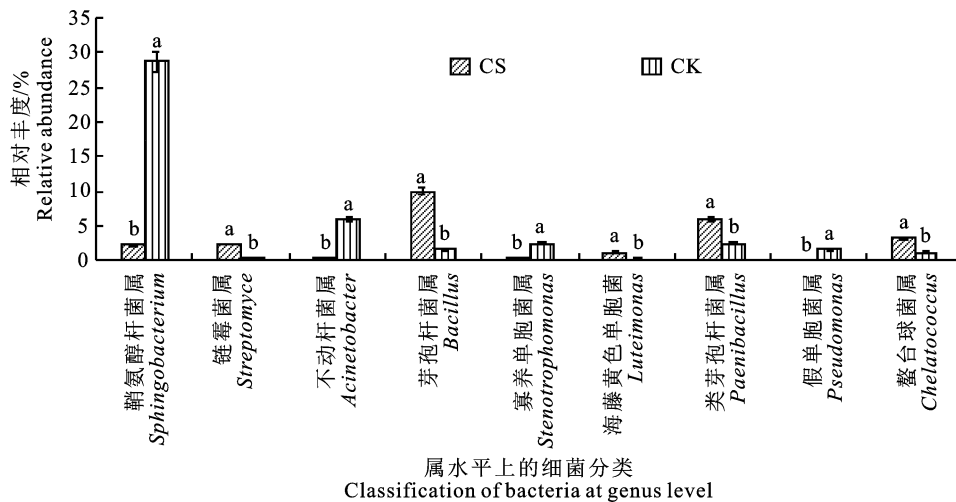


图 5 两种发酵堆体内细菌微生物群落的变化

Fig. 5 Changes of bacterial microbial communities in two fermentation reactors

表 3 理化性质与微生物间相关性分析

Table 3 Correlation analysis between physical and chemical properties and microorganisms

细菌菌属 Genus of bacteria	温度 Temperature	pH	电导率 Conductivity	体积质量 Volume mass	全氮 TN	碳氮比 C/N
假黄色单胞菌 <i>Pseudoxanthomonas</i>	0.819*	0.964**	0.976**	-0.947**	0.944**	-0.846*
德沃斯氏菌属 <i>Devosia</i>	-0.743	-0.981**	-0.982**	0.962**	-0.858*	0.812*
海藤黄色单胞菌属 <i>Luteimonas</i>	0.815*	0.989**	0.984**	-0.981**	0.846*	-0.822*
短波单胞菌属 <i>Brevundimonas</i>	-0.666	-0.938**	-0.918**	0.859*	-0.779	0.648
螯台球菌属 <i>Chelatococcus</i>	0.714	0.984**	0.976**	-0.975**	0.779	-0.780
肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>	-0.716	-0.882*	-0.833*	0.750	-0.677	0.451
粘着箭菌属 <i>Ensifer</i>	0.627	0.973**	0.980**	-0.964**	0.810	-0.782
叶杆菌属 <i>Phyllobacterium</i>	0.444	0.849*	0.893*	-0.906*	0.771	-0.821*
链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	0.741	0.959**	0.940**	-0.953**	0.719	-0.749
野野村氏菌 <i>Nonomuraea</i>	0.843*	0.838*	0.804	-0.830*	0.634	-0.671
糖单孢菌属 <i>Saccharomonospora</i>	0.832*	0.857*	0.823*	-0.849*	0.641	-0.680
分枝杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	0.600	0.953**	0.955**	-0.961**	0.736	-0.772
原小单孢菌属 <i>Promicromonospora</i>	0.695	0.864*	0.834*	-0.875*	0.556	-0.647
海洋防线菌属 <i>Marinactinospora</i>	0.814*	0.860*	0.827*	-0.853*	0.632	-0.677
拟诺卡氏菌属 <i>Nocardioopsis</i>	0.645	0.853*	0.826*	-0.871*	0.538	-0.650
微杆菌属 <i>Microbacterium</i>	0.086	-0.059	-0.153	0.095	-0.470	0.353
纤维菌属 <i>Cellulosimicrobium</i>	0.218	0.299	0.253	-0.341	-0.089	-0.115
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	0.837*	0.987**	0.981**	-0.982**	0.847*	-0.822*
赖氨酸芽孢杆菌 <i>Lysinibacillus</i>	0.831*	0.938**	0.952**	-0.919**	0.948**	-0.822*
类芽孢杆菌属 <i>Paenibacillus</i>	0.507	0.885*	0.908*	-0.856*	0.826*	-0.710
橄榄形菌属 <i>Olivibacter</i>	-0.831*	-0.808	-0.842*	0.902*	-0.838*	0.920**
粘球菌属 <i>Myxococcus</i>	0.065	0.437	0.479	-0.459	0.411	-0.364
鞘氨醇杆菌属 <i>Sphingobacterium</i>	-0.777	-0.954**	-0.975**	0.993**	-0.915*	0.909*
寡养单胞菌属 <i>Stenotrophomonas</i>	-0.756	-0.983**	-0.971**	0.932**	-0.959**	0.924**
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	-0.609	-0.871*	-0.829*	0.740	-0.873*	0.813*
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	-0.733	-0.977**	-0.990**	0.976**	-0.935**	0.913*

注: * 为显著相关 $P < 0.05$; ** 为极显著相关 $P < 0.01$ 。

Note: * is significant correlation at level of $P < 0.05$; ** is extremely significant correlation at level of $P < 0.01$.

度较高可能会导致一部分不耐高温的微生物失活,进而使 CS 处理内的微生物的群落多样性低于 CK 处理。而 CS 处理内的 pH 与 CK 处理相比,更接近弱碱性,更有利于微生物进行代谢等活动^[21]。在前人的研究中曾指出,厚壁菌可在高温下生长,并广泛分布于发酵的高温阶段^[28],这与本研究的结果相似。CK 处理较 CS 处理堆体具有更多的特异性细菌微生物生物类群。与 CK 处理相比,CS 高温期的温度较高,而细菌对于环境的变化很敏感^[29],此时 CS 堆体内嗜温微生物的活性不断下降,嗜热微生物的活性增强,并取代嗜温微生物成为优势菌属,从而导致堆体内微生物多样性降低^[30]。

在发酵高温期,CS 处理与 CK 处理的优势细菌属具有明显的特点,在 CK 处理的优势属中,鞘氨醇杆菌属、寡养单胞菌属、假单胞菌属、不动杆菌属是磷降解或与磷形态转化有关的主要功能菌属,在发酵物料中有机态磷主要以核酸、植素和磷脂形式存在,在微生物的作用下分解为能被植物

吸收的无机态磷化合物^[31],试验结果说明添加玉米浆会降低磷转化相关的功能菌属的相对丰度。放线菌群的群落结构和进化被作为成熟发酵的指标而被学者多次研究^[32-33],其在有机物降解中起着十分重要的作用。放线菌群在降解一些持久性的化合物和通过自身分泌多种抗生素以消除病原微生物的方面有着特殊的优势,也可在高温发酵过程中存活并维持较高的丰度^[34]。在 CS 处理中,厚壁菌门的相对丰度较 CK 处理有所增加,这种现象可能与厚壁菌形成耐高温内孢子的能力有关,其对不利的环境条件也具有一定的耐受性^[35]。在 CS 处理的优势属中,螯台球菌属为反硝化细菌,其在厌氧条件下,可进行反硝化作用,通过亚硝酸还原酶的催化还原反应将氮氧化物(NO_3^- 、 NO_2^-)转变成为气态氮(NO 、 N_2O 、 N_2),这也是发酵过程中氮素循环的一个重要过程^[36],正是由于这一原因,导致 CS 处理中铵态氮含量在第 3 天~第 6 天内有所下降。链霉菌属具有降解木质素、纤维素以及半纤维素的功能;芽孢杆菌

属具有分解纤维素的能力,还能够产生几丁质酶、多种纤维素酶以及蛋白酶,对高温等不良环境具有一定的耐受能力;海藤黄色单胞菌属具有较强的纤维素降解活性,这3类菌属的相对丰度增加,有利于加快堆内木质素纤维素的降解。

4 结论

在大球盖菇培养料建堆发酵过程中,以玉米浆或尿素作为氮源都会导致堆体温度上升、体积质量增大、pH 升高、碳氮比降低;但与对照相比,添加玉米浆能够改变发酵堆的理化性质,使发酵温度上升更高,高温期更长,电导率和全氮含量升高。使电导率与全氮和铵态氮含量正相关;并改变高温期细菌群落的相对丰度,在一定程度上促进变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)和厚壁菌门(Firmicutes)的生长,同时又抑制拟杆菌门(Bacteroidota)的生长,使具有分解纤维素、固氮功能的菌属显著升高成为优势菌属,在一定程度上促进氮循环,更有利于秸秆腐熟发酵。这些结果为研究玉米秸秆和玉米浆发酵中优势属的潜在功能提供参考。

参考文献 Reference:

- [1] RENAUD M, CHELINHO S, ALVARENGA P, *et al.* Organic wastes as soil amendments-effects assessment towards soil invertebrates[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 330: 149-156.
- [2] 王金武,唐 汉,王金峰. 东北地区作物秸秆资源综合利用现状与发展分析[J]. *农业机械学报*, 2017, 48(5): 1-21.
WANG J W, TANG H, WANG J F. Comprehensive utilization status and development analysis of crop straw resource in Northeast China[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2017, 48(5): 1-21.
- [3] 廖庆祥,孙 朋,杜同同,等. 大球盖菇种植栽培与药用价值研究进展[J]. *北方园艺*, 2019(6): 163-169.
YAN Q X, SUN P, DU T T, *et al.* Advances in cultivation and medicinal value of *Stropharia rugosoannulata* [J]. *Northern Horticulture*, 2019(6): 163-169.
- [4] 黄丹莲. 堆肥微生物群落演替及木质素降解功能微生物强化堆肥机理研究[D]. 长沙:湖南大学,2011.
HUANG D L. Microbial community succession and the mechanism of solid waste composting by ligninolytic microorganism [D]. Changsha: Hunan University, 2011.
- [5] 张海滨,孟海波,沈玉君,等. 生物炭对沼渣堆肥理化性状及微生物种群变化的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(2): 245-253.
ZHANG H B, MENG H B, SHEN Y J, *et al.* Effect of biochar addition on physicochemical properties and microbial population of biogas residue compost[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(2): 245-253.
- [6] 苏鹏伟,罗 瑾,狄亚鹏,等. 牛粪堆肥中细菌群落结构变化及与理化因子的相关性[J]. *山西农业科学*, 2021, 49(11): 1317-1323.
- SU P W, LUO J, DI Y P, *et al.* Changes of bacterial community structure and its correlation with physical and chemical factors in cow manure composting[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2021, 49(11): 1317-1323.
- [7] 张静美,吴兴兴. 森林枯枝落叶堆肥过程中理化性质变化规律探究[J]. *南方农业*, 2020, 14(32): 232-234.
ZHANG J M, WU X X. Research on the changing laws of physicochemical properties during composting of forest litter[J]. *South China Agriculture*, 2020, 14(32): 232-234.
- [8] LEI F, VANDER GHEYNST J S. The effect of microbial inoculation and pH on microbial community structure changes during composting [J]. *Process Biochemistry*, 2000, 35(9): 923-929.
- [9] MBARECHE H, VEILLETTE M, BONIFAIT L, *et al.* A next generation sequencing approach with a suitable bioinformatics workflow to study fungal diversity in bio-aerosols released from two different types of composting plants[J]. *Science of the Total Environment*, 2017: 601-602, 1306-1314.
- [10] 李海燕. 玉米浆及其副产物的制备与应用[D]. 武汉:湖北工业大学,2013.
LI H Y. The preparation and applications of corn syrup and its by-products [D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2013.
- [11] 王金兰,于彩碟,张树军,等. 玉米浆化学成分的分离纯化与结构鉴定[J]. *中国粮油学报*, 2022, 37(5): 48-55.
WANG J L, YU C D, ZHANG SH J, *et al.* Chemical constituent of separation, purification and structural identification from corn steep liquor[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2022, 37(5): 48-55.
- [12] 王 敏,张敬书,赵艳丽,等. HPLC 法测定玉米浆中游离氨基酸的含量[J]. *中国酿造*, 2010(5): 156-159.
WANG M, ZHANG J SH, ZHAO Y L, *et al.* Determination of free amino acids content in corn syrup by HPLC [J]. *China Brewing*, 2010(5): 156-159.
- [13] 李 晶,郑喜群,刘晓兰,等. 玉米浆发酵液对杏鲍菇菌丝生长的影响[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2021, 33(6): 60-64.
LI J, ZHENG X Q, LIU X L, *et al.* Effect on mycelium growth and nutritional value of *Pleurotus eryngii* with fermented corn steep liquor[J]. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University*, 2021, 33(6): 60-64.
- [14] 李 晶,郑喜群,刘晓兰. 玉米浆发酵液对杏鲍菇营养价值和非挥发性呈味物质含量的影响[J]. *食品与机械*, 2021, 37(12): 46-51.
LI J, ZHENG X Q, LIU X L. The effect on nutritional value and non-volatile flavor substance content of *Pleurotus eryngii* with fermentable corn steep liquor[J]. *Journal of Heilongjiang Food & Machinery*, 2021, 37(12): 46-51.
- [15] 马丽峰,范博文,王 赓. 不同玉米浆浓度对金针菇生长和产量的影响[J]. *乡村科技*, 2021, 12(30): 50-52.
MA L F, FAN B W, WANG G. Effects of different corn steep liquor concentrations on growth and yield of *Flammu-*

- lina velutipes*[J]. *Xiangcun Keji*, 2021, 12(30):50-52.
- [16] 高桂兰. 浅谈林地土壤容重测定方法的改进[J]. *生物技术世界*, 2012, 10(10):16-17.
GAO G L. Improvement of soil bulk density measurement method in forest land[J]. *Biotech World*, 2012, 10(10):16-17.
- [17] ABID N, SAYADI S. Detrimental effects of olive mill wastewater on the composting process of agricultural wastes[J]. *Waste Management*, 2006, 26:1099-107.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
BAO SH D. Soil Agrochemical Analysis[M]. Beijing:China Agricultural Press, 2000.
- [19] 刘倩倩. 长期秸秆还田配施氮肥对砂姜黑土肥力及细菌多样性的影响[D]. 安徽阜阳:阜阳师范学院, 2019.
LIU Q Q. Effects of long-term straw in corporation and nitrogen fertilizer application on fertility and bacterial diversity of lime concretion black soil[D]. Fuyang Anhui:Fuyang Normal University, 2019.
- [20] LIU J J, SUI Y Y, YU Z H, *et al.* High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of Northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70:113-122.
- [21] 王志方, 陈 竞, 代金平, 等. 棉秸秆自然腐解过程中细菌菌群多样性分析[J]. *新疆农业科学*, 2019, 56(1):111-119.
WANG ZH G, CHEN J, DAI J P, *et al.* Analysis on the diversity of bacterial flora during the natural decomposing process of corn straws by illumina miseq sequencin[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2019, 56(1):111-119.
- [22] 武晓桐, 姜 欣, 盛思远, 等. 静态好氧高温牛粪堆肥中 nirK 型反硝化细菌群落动态变化[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(5):986-996.
WU X T, JIANG X, SHENG S Y, *et al.* Dynamics of nirK type denitrifying bacterial community in static aerobic high temperature composting[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(5):986-996.
- [23] RAJPAL A, ARORA S, BHATIA A, *et al.* Co-treatment of organic fraction of municipal solid waste(OFMSW) and sewage by vermireactor [J]. *Ecological Engineering*, 2014, 73:154-161.
- [24] 苏鹏伟, 罗 瑾, 狄亚鹏, 等. 牛粪堆肥中细菌群落结构变化及与理化因子的相关性[J]. *山西农业科学*, 2021, 49(11):1317-1323.
SU P W, LUO J, DI Y P, *et al.* Changes of bacterial community structure and its correlation with physical and chemical factors in cow manure composting[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2021, 49(11):1317-1323.
- [25] 王小纯, 李高飞, 安 帅, 等. 氮素形态对中后期小麦根际土壤氮转化微生物及酶活性的影响[J]. *水土保持学报*, 2010, 24(6):204-207, 245.
WANG X CH, LI G F, AN SH, *et al.* Effects of nitrogen forms on rhizosphere microorganisms and soil enzyme activity for nitrogen transform of wheat cultivar during elongation and grain filling stage[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(6):204-207, 245.
- [26] 胡 伟. 有机固废好氧发酵过程中的 pH 变化与原材料性质对产物 pH 的影响[D]. 江苏扬州:扬州大学, 2017.
HU W. Changes of pH in the aerobic fermentation process of organic solid waste and effects of raw material on product pH [D]. Yangzhou Jiangsu: Yangzhou University, 2017.
- [27] MENG Q X, YANG W, MEN M Q, *et al.* Microbial community succession and response to environmental variables during cow manure and corn straw composting[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10:529. doi:10.3389/fmicb.2019.00529.
- [28] ZHANG L, ZHANG H, WANG Z, *et al.* Dynamic changes of the dominant functioning microbial community in the compost of a 90-m³ aerobic solid state fermentor revealed by integrated meta-omics[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 203:1-10.
- [29] MALINOWSKI M, WOLNY-KOLADKA K, VAVERKOVA M D. Effect of biochar addition on the OFMSW composting process under real conditions[J]. *Waste Management*, 2019, 84:364-372.
- [30] 张 秧, 艾为党, 冯海艳, 等. 小麦秸秆好氧堆肥过程中微生物多样性与优势菌群分析[J]. *农业工程学报*, 2021, 37(11):206-212.
ZHANG Y, AI W D, FENG H Y, *et al.* Microbial diversity and dominant microbial communities in wheat straw aerobic composting[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2021, 37(11):206-212.
- [31] 赵素芬. 猪粪好氧堆肥过程中磷元素变化规律的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2005.
ZHAO S F. Study on the phosphorus during the aerobic composting process [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005.
- [32] STEGER K, JARVIS A, VASARA T, *et al.* Effects of differing temperature management on development of actinobacteria populations during composting[J]. *Research in Microbiology*, 2007, 158:617-624.
- [33] TIAN W, SUN Q, XU D, *et al.* Succession of bacterial communities during composting process as detected by 16S rRNA clone libraries analysis[J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2013, 78:58-66.
- [34] JURADO M, LOPEZ M J, SUAREZ-ESTRELLA F, *et al.* Exploiting composting biodiversity: study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 162:283-293.
- [35] HARTMANN M, NIKLAUS P A, ZIMMEMANN S, *et al.* Resistance and resilience of the forest soil microbiome to logging-associated compaction[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8:226-244.
- [36] 胡春晓. 农业废物好氧堆肥中反硝化功能基因及其分布特征的研究[D]. 长沙:湖南大学, 2013.
HU CH X. The Research on denitrification genes and the distribution of them during in agricultural waste composting[D]. Changsha: Hunan University, 2013.

Effect of Corn Slurry on Fermentation of *Pleurotus ostreatus*

JI Kuaile, GAO Ying, JIA Xiaotong, SUN Ning, WANG Mengmeng,
WU Xia, ZHAO Liqin, FAN Bowen and YANG Fengjun

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Heilongjiang Bayi Agricultural
University, Daqing Heilongjiang 163319, China)

Abstract Corn slurry is industrial waste, which is used as supplementary nitrogen source to replace urea in this study, its effect on the physicochemical properties and bacterial microorganisms in the fermentation process of the mushroom culture was analyzed, which is expected to reveal the biological mechanism of maize slurry affecting the fermentation process of the culture. Two treatments were set in this experiment, the corn straw was used as the fermentation material, corn slurry was used as a supplemental nitrogen source, and urea was used as the control. The pile fermentation was conducted to produce the mushroom culture. The physicochemical properties of the culture were measured at 0, 3, 6 and 9 days during the fermentation process, and the diversity and abundance of bacterial microorganisms in the fermentation pile were measured on 3rd day (high temperature period). Finally, a correlation between physicochemical factors and the bacterial microorganisms was performed. The results demonstrated that addition of corn slurry affected the physicochemical properties of the fermentation pile, so the fermentation pile could fast reach the high temperature period, its duration was prolonged, the temperature, pH, conductivity and total nitrogen content of the fermentation pile were increased, and the fermentation process of the culture material was promoted. The changes in bacterial community abundance during the high temperature period indicated that the addition of corn slurry could promote the growth of Proteobacteria, Actinobacteriota and Firmicutes, while it inhibited the growth of Bacteroidota; *Sphingobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* were significantly reduced in relative abundance; *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Streptomyces*, *Luteimonas* and *Chelatococcus* became the dominant genera. *Bacillus* and *Paenibacillus* were significantly and positively correlated with pH, conductivity and bulk mass; *Luteimonas* and *Chelatococcus* were significantly and positively correlated with total nitrogen. The results demonstrated that corn slurry can replace urea as a supplementary nitrogen source for the *Agaricus grandis* culture during the straw fermentation process. Further, the addition of corn slurry also changes the physicochemical properties of the culture and the abundance composition of its internal microbial community, which promotes nitrogen cycling to a certain extent and is more conducive to straw pile fermentation.

Key words Corn slurry; Nitrogen source; Fermentation; Bacterial community

Received 2022-01-12

Returned 2022-04-01

Foundation item National Natural Science Foundation of China (No. 31801905); Support Project of Heilongjiang Vegetable Modern Agricultural Industry Technology Collaborative Innovation System (No. HNWJZTX202001); Achievement Transformation Project of Daqing Science and Technology Bureau (No. DQKJZH2021-2); Young Innovative Talents Training Program of Undergraduate Colleges and Universities in Heilongjiang Province (No. UNPYSCT-2020042); Graduate Innovation Research Project (No. YJSCX2021-Y117).

First author JI Kuaile, male, master student. Research area: physiological ecology and microorganism of horticultural crops. E-mail: 1292500799@qq.com

Corresponding author YANG Fengjun, male, professor, master supervisor. Research area: physiological ecology and microorganism of horticultural crops. E-mail: Yangfengjun@163.com

(责任编辑:史亚歌 Responsible editor: SHI Yage)