

# 鸡粪除氨菌株的分离、筛选与菌剂配制

赵晓锋,于文清,田艳洪,刘文志,李 鹏,隋文志

(黑龙江省农垦科学院 农畜产品综合利用研究所,黑龙江 佳木斯 154007)

**摘要:**为减少鸡粪高温堆肥氨气的释放量,于2010~2011年,采用嗅味法进行初筛,采用硼酸吸收,稀硫酸滴定的方法进行复筛研究。结果表明:初筛得到具有除臭能力的菌株449株,并最终分离了细菌KB217、放线菌KA46和真菌KF21三个菌株,使鸡粪堆肥的氨气释放量分别降低了59.40%、55.05%和56.38%。初步鉴定细菌KB217为微球菌属,放线菌KA46为链霉菌属,真菌KF21为青霉菌属。拮抗试验证明3株菌之间无拮抗作用,菌株复合试验结果表明3株菌的混合制剂能使鸡粪堆肥的氨气释放量降低67.33%,并且缩短了氨气的释放时间。

**关键词:**微生物除臭;鸡粪;除氨气菌株;菌株复合;菌剂配制

**中图分类号:**S141.4      **文献标识码:**A      **文章编号:**1002-2767(2012)06-0085-03

鸡粪高温堆肥过程中会释放出大量有害的恶臭气体,其中浓度较高、对人体健康危害最大的主要是氨气和硫化氢。除氨气微生物能分解转化堆体中的含氮有机物,同时能够吸附氨气并将其转化为自身的营养物质,从而减少氨气释放。该文分离、筛选高效除氨气菌株,并将各菌株复配成除氨气的菌剂,为减少鸡粪高温堆肥氨气释放量

提供理论依据和菌种资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试土壤样品采自水田、池塘淤泥、菜园、花园、山坡腐殖层和河床;供试草炭、腐殖酸、鲜鸡粪和污泥等采自佳木斯周边地区。鸡粪养分含量见表1。

表1 鸡粪的养分含量

Table 1 Nutrient contents of chicken manure

项目 Item	水分/% Moisture	有机质/% Organic matter	全氮/g·kg <sup>-1</sup> Total N	全磷/g·kg <sup>-1</sup> Total P	全钾/g·kg <sup>-1</sup> Total K	pH
鸡粪 Chicken manure	69.40	57.80	38.10	19.94	26.63	7.92

### 1.2 方法

1.2.1 分离培养基 细菌用牛肉膏蛋白胨培养基;放线菌用高氏一号培养基;真菌用马铃薯蔗糖培养基。

鸡粪浸提液<sup>[1]</sup>:200 g 鲜鸡粪加 800 mL 水搅拌后,过滤,调滤液 pH 为 7.0~7.2,121℃灭菌 30 min。

1.2.2 分离方法 将样品稀释至 10 000 倍,不同的浓度分别采用稀释平板法、涂布法和划线法分离细菌、放线菌、真菌,纯化,然后将细菌、放线菌在28~30℃、真菌在 25~28℃培养,4℃保存备用。

1.2.3 初筛 将分离得到的菌株采用鸡粪浸提液培养基制成菌液,并将新鲜鸡粪用风干鸡粪调节含水量至 60%~65%,30℃条件下培养 24 h 后,称取 50.0 g 装入 250 mL 三角瓶中,将制成的菌液按 5%的接种量接入三角瓶,混拌均匀后塞好胶塞。分别在第 1、3、5、10 和 15 天凭感官测定臭味等级,臭味等级分为 5 个级别,分别为 M0—无臭味,M1—仔细才能闻到,M2—有明显臭味,M3—比较臭,M4—恶臭。同时测定菌液的 pH。

1.2.4 复筛 将初筛得到的菌种,培养成菌液。称取风干鸡粪 50.0 g,加入 10 mL 培养好的菌液,然后补充 40 mL 无菌水,混合均匀,装入 1 000 mL 的广口瓶中。放入装有 30 mL 2%硼酸溶液的50 mL小烧杯,敞口放入 28~30℃的温箱中 1 h 后,盖塞并用双层薄膜封口。每个菌种 5

收稿日期:2012-03-23

基金项目:黑龙江省科技厅科技攻关资助项目(GA09B502-1)

第一作者简介:赵晓锋(1981-),男,黑龙江省五常市人,硕士,助理研究员,从事农业微生物研究。E-mail: zxfy@163.com。

个重复,以只加无菌水的作为空白对照。每隔5 d取出小烧杯,用 $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的稀硫酸滴定硼酸吸收液,测定广口瓶中鸡粪的氨气释放量,从而筛选出可减少氨气排放的菌种,至第20天结束。

1.2.5 菌株初步鉴定 细菌根据《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[2]</sup>和《伯杰细菌鉴定手册(第八版)》<sup>[3]</sup>鉴定,放线菌根据《放线菌的分类和鉴定》<sup>[4]</sup>鉴定,真菌根据《真菌鉴定手册》<sup>[5]</sup>鉴定。

1.2.6 菌株拮抗 细菌、放线菌划线接种,两两交叉划线,真菌点接。 $30^{\circ}\text{C}$ 培养3~5 d后,观察是否有拮抗作用。

1.2.7 菌株组合 将经过复筛并且没有拮抗作用的菌株进行复配,按照复筛的方法测定复合菌剂对氨的去除率。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株分离结果

试验从各样品中共分离449株菌株,其中,细菌217株,编号为KB1~KB217;丝状真菌101

株,编号为KF1~KF101;放线菌131株,编号为KA1~KA131。

### 2.2 菌株初筛试验结果

pH测定结果表明,细菌菌株发酵过程中pH都较对照培养基要高,放线菌和真菌中个别菌株pH下降幅度特别大,达到4.0~5.0,将这些菌株筛选出来进行复筛试验。通过感官试验筛选出最终臭味等级为M0的菌株和pH下降幅度较大的菌株23株,进行复筛试验。

### 2.3 菌株复筛试验结果

经过试验筛选出除氨气效率高于55%的菌株3株,分别是KB217、KA46和KF21,氨去除率分别为59.40%、55.05%和56.38%(见表2)。

### 2.4 菌株鉴定结果

2.4.1 KB217 菌落淡黄色,圆形,小,湿润,不透明,边缘整齐,隆起较高。菌体为球形,直径 $1.0\sim 2.0\text{ }\mu\text{m}$ ,细胞单生或对生。好氧菌,革兰氏染色阳性,发酵葡萄糖不产酸。初步鉴定为微球菌属。

表2 复筛菌株20 d氨气释放总量与最终去除率分析

Table 2 Analysis on release amount and final removal rate of  $\text{NH}_3$  of secondary screening strains in 20 days

菌株编号 Number	$\text{NH}_3$ 释放量 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Release amount of $\text{NH}_3$	$\text{NH}_3$ 去除率/% Removal rate of $\text{NH}_3$	菌株编号 Number	$\text{NH}_3$ 释放量 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Release amount of $\text{NH}_3$	$\text{NH}_3$ 去除率 /% Removal rate of $\text{NH}_3$
KB9	2165.3	51.71	KB161	3240.1	27.73
KB13	3255.8	27.40	KB211	2701.7	39.74
KB23	3461.2	22.79	KB217	1820.6	59.40
KB25	2523.7	43.73	KA35	2339.5	47.83
KB44	3085.1	31.19	KA46	2015.2	55.05
KB56	3057.4	31.82	KA59	2480.8	44.69
KB97	3530.1	21.25	KA123	2387.4	46.76
KB99	2193.6	51.08	KF12	2924.4	34.78
KB103	2202.6	50.88	KF21	1955.2	56.38
KB114	2535.2	43.46	KF51	3158.3	29.55
KB123	3088.5	31.11	KF57	3123.6	30.33
KB150	2897.3	35.38	CK	4483.7	0

2.4.2 KA46 气生菌丝白色,成孢后菌落为灰色,有同心圆,干燥,培养基背面淡紫色。气生菌丝断裂为球形连接的链状,基内菌丝无隔膜,孢子无色,球形。初步鉴定为链霉菌属。

2.4.3 KF21 菌丝白色,浓密,较短,成孢后变成淡紫色。菌丝透明有隔膜,分枝茂盛,分生孢子梗从菌丝垂直生出,聚成孢梗束,分生孢子串呈不分支的链状,孢子球形,无色。初步鉴定为青霉属。

### 2.5 菌株拮抗试验结果

拮抗试验结果表明,各菌株之间无拮抗作

用(见表3)。

表3 各菌株之间拮抗作用情况

Table 3 Antagonism between all strains

菌株编号 Number	KB217	KA46	KF21
KB217		—	—
KA46	—		—
KF21	—	—	

注:“—”表示不存在拮抗作用。

Note: ‘—’ means there isn’t antagonism.

## 2.6 单菌株与菌株组合除臭试验效果

从表 4 可以看出,菌株复合后无论是两两混合还是 3 株同时混合都较单株菌的氨气去除率高,说明各个菌株之间都有相互促进除氨气的作用,尤其是 3 株混合的菌液使氨气释放量降低了 67.33%。

由于细菌繁殖速度较快,所有添加细菌的菌

剂在堆肥最初就能控制氨气的释放,放线菌和真菌则是在 5~10 d 时开始起作用的。

各菌剂氨气释放趋势与对照一致,均在 5~10 d 时达到高峰,KB217、KA46、KF21 三菌株复合菌剂在 15~20 d 内仅释放 27.12 mg·kg<sup>-1</sup>,平均每天不足 6 mg·kg<sup>-1</sup>,说明该菌剂能够在 20 d 内控制氨气的释放,缩短氨气释放时间。

表 4 菌株与组合 20 d 内氨释放量与最终去除率比较

Table 4 Comparison of strains and combinations on release amount and final removal rate of NH<sub>3</sub> in 20 days

菌株与组合编号 Number of strains and combinations	NH <sub>3</sub> 释放量/mg·kg <sup>-1</sup> Release amount of NH <sub>3</sub>					最终 NH <sub>3</sub> 去除率/% Final removal rate of NH <sub>3</sub>
	3 d	5 d	10 d	15 d	20 d	
KB217	46.40	301.16	948.32	368.13	156.41	59.40
KA46	103.59	360.62	996.54	372.88	181.79	55.05
KF21	87.68	365.20	970.67	350.49	181.69	56.38
KB217+KA46	30.12	327.03	930.18	421.60	156.46	58.39
KB217+KF21	28.36	316.88	929.03	351.18	130.92	60.82
KA46+KF21	91.60	359.04	889.92	320.89	170.96	58.13
KB217+KA46+KF21	40.12	286.24	793.92	317.33	27.12	67.33
CK	392.73	913.52	1873.68	984.24	319.23	0

## 3 结论

分离筛选出细菌 KB217、放线菌 KA46 和真菌 KF21 三个菌株,使鸡粪堆肥的氨气释放量分别降低了 59.40%、55.05% 和 56.38%。初步鉴定细菌 KB217 为微球菌属,放线菌 KA46 为链霉菌属,真菌 KF21 为青霉菌属。3 株菌之间无拮抗作用,三者混合制剂能使氨气释放量降低 67.33%,并且缩短氨气释放时间。

## 参考文献:

- [1] 陈瑞勤. 鸡粪除臭微生物的筛选[J]. 中国饲料添加剂, 2009(6):24-26.
- [2] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2011.
- [3] 布坎南 R E,吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京:科学出版社,1984.
- [4] 阎逊初. 放线菌的分类和鉴定[M]. 北京:科学出版社,1974.
- [5] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:科学技术出版社,1979.

# Isolating and Screening of NH<sub>3</sub> Removing Strains and Bacterial Agent Preparation of Chicken Manure

ZHAO Xiao-feng, YU Wen-qing, TIAN Yan-hong, LIU Wen-zhi, LI Peng, SUI Wen-zhi

(Agricultural and Poultry Products Comprehensive Utilization Sciences Institute of Heilongjiang Academy of Land Reclamation Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

**Abstract:** Aiming at reducing the release amount of NH<sub>3</sub> of chicken manure during high temperature compost, primary screened by smell and secondary screening by the method of boric acid absorption, then titrated with dilute sulfuric acid were studied from 2010 to 2011. The result showed that primary screened 449 strains, and finally obtained three strains that could remove NH<sub>3</sub>, named KB217, KA46 and KF21, their removal rate were 59.40%, 55.05% and 56.38%. Preliminary identified KB217 was micrococuss, KF21 was penicillium, and KA46 was streptomycetes. There was no antagonism between three strains, the result of strains complex experiment indicated that the agent mixed with three stains could decrease the release amount of NH<sub>3</sub> by 67.33%, and shorten its release time.

**Key words:** microbial deodorization; chicken manure; ammonia removing strains; strains complex; bacterial agent preparation