

# 粘红酵母和地衣芽孢杆菌菌肥对芸豆豆苗生长的影响

薛飞燕<sup>1,2</sup>, 赵爽<sup>1</sup>, 玉晏飞<sup>1</sup>, 马兰青<sup>1,2</sup>, 赵晓萌<sup>1\*</sup>

(1. 北京农学院生物科学与工程学院, 北京 102206; 2. 农业部都市农业(北方)重点实验室, 北京 102206)

**摘要** [目的] 为了探索餐厨废水资源化利用, 以生产生物肥料的可行性。[方法] 以餐厨废水为原料, 分别接种粘红酵母(*R. glutinis*)和地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)进行发酵培养, 获得生物菌肥, 以基肥形式进行芸豆豆苗肥效测试, 分别测定了粘红酵母菌肥、地衣芽孢杆菌菌肥及二者的混合菌肥对芸豆豆苗生长的影响。[结果] 粘红酵母利用餐厨废水发酵 24 h 以后可积累生物量 10 g/L 以上, 地衣芽孢杆菌利用餐厨废水发酵 60 h 后高温淀粉酶活力可达 950 U 以上; 施以单一菌肥时, 粘红酵母菌肥和地衣芽孢杆菌菌肥对豆苗直径粗增长均有促进作用(前者的促进作用更明显), 而对豆苗株高增长有明显的抑制效应; 以不同剂量、不同比例施以混合菌肥时, 当粘红酵母与地衣芽孢杆菌质量比为 4:1, 总施肥量为 0.2 g/盆时, 混合菌肥对直径粗的促进作用最大, 对株高的抑制效应最小。[结论] 粘红酵母和地衣芽孢杆菌的混合菌对芸豆豆苗直径粗增长有明显的促进作用, 可作为生物肥料使用。

**关键词** 粘红酵母; 地衣芽孢杆菌; 菌肥; 芸豆

中图分类号 S144 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)12-03541-03

## Effects of Bio-fertilizer of *Rhodotorula glutinis* and *Bacillus licheniformis* on Kidney Bean Growth

XUE Fei-yan, ZHAO Xiao-meng et al (College of Biological Science and Engineering, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206; Key Laboratory of Urban Agriculture (North) of Ministry of Agriculture, Beijing 102206)

**Abstract** [Objective] The objective of this study was to test the feasibility of converting restaurant wastewater into bio-fertilizer. [Method] Restaurant wastewater was used as raw material for *Rhodotorula glutinis* and *Bacillus licheniformis* fermentation. As basal bio-fertilizer, the effects of *R. glutinis* and *B. licheniformis* on kidney bean growth was tested. [Result] More than 10 g/L of *R. glutinis* biomass and 950 U of amylase could be obtained respectively. In the pot experiment, both *R. glutinis* and *B. licheniformis* promoted the diameter and inhibited the height of kidney bean plant during the cultivation. Different effects were found with different doses and different proportions of the mixed bio-fertilizer. Maximum promotion effect on plant diameter and minimum inhibitory effect on plant height was observed when the ratio of *R. glutinis* and *B. licheniformis* was 4:1 and the dose of mixed bio-fertilizer was 0.2 g in every pot. [Conclusion] The mixed bio-fertilizer of *R. glutinis* and *B. licheniformis* promoted diameter growth of kidney bean, which could be used as bio-fertilizer.

**Key words** *Rhodotorula glutinis*; *Bacillus licheniformis*; Bio-fertilizer; Kidney bean

近年来因化学肥料和农药的大量使用, 农产品质量下降、耕地土壤品质和生产力降低等农业生产环境恶化现象日趋严重<sup>[1]</sup>。为保障农产品质量、修复改善土壤环境和确保粮食安全供应, 开发可替代传统化学肥料的生物肥料(特别是微生物肥料)成为农业可持续发展的研究热点之一<sup>[2]</sup>。微生物肥料又叫菌肥或接种剂等, 因含有大量微生物(包括芽孢杆菌、假单胞菌、链霉菌、微藻类等), 可以完全替代或部分替代化学肥料在土壤中通过营养协作或生命活动而改善农业生产环境<sup>[3-5]</sup>。

地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)因可以产生芽孢而具有较强的抗逆性和延长产品保存期的能力。有研究表明, 它具有产生多种酶类、吸附重金属和促进农作物生长的能力。因而, 它备受微生物肥料开发研究者的关注<sup>[3,6-7]</sup>。而有研究表明, 粘红酵母(*Rhodotorula glutinis*)可以利用味精废水、淀粉废水、酒糟废水和油脂废水等有机废水中的 C 源、N 源及其他营养元素转化为菌体及细胞内含物<sup>[8-11]</sup>。芸豆(*Phaseolus vulgaris* Linn. sp)学名菜豆, 属豆科的小宗杂粮作物, 因具有极高的营养价值和药用价值而受到人们的喜爱和医学界的重视<sup>[12]</sup>。该研究是在证实粘红酵母利用餐厨废水转化生物肥料并对豆科幼苗生长有一定促进作用的基础

上<sup>[13]</sup>, 进一步研究了以餐厨废水为原料通过发酵培养获得地衣芽孢杆菌及地衣芽孢杆菌、粘红酵母混合菌肥对芸豆盆栽幼苗生长的影响, 以期对生物肥料的深入研究提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

**1.1.1 菌株。**供试粘红酵母、地衣芽孢杆菌原始菌株分别由北京化工大学谭天伟教授和杨建国客座教授惠赠。实验室针对餐厨废水经过多次驯化筛选获得供试菌株。

**1.1.2 芸豆种子。**市场购买籽粒饱满的花芸豆。

**1.1.3 培养基。**粘红酵母种子液培养基组成为葡萄糖 40 g/L, 磷酸二氢钾 7 g/L, 硫酸钠 2 g/L, 七水合硫酸镁 1.5 g/L, 酵母粉 1.5 g/L, 硫酸铵 2 g/L, pH 5.5。

地衣芽孢杆菌种子液培养基组成为蛋白胨 5 g/L, 牛肉膏 1.5 g/L, 酵母粉 1.5 g/L, 氯化钠 3.5 g/L, 葡萄糖 1 g/L, 磷酸氢二钾 3.86 g/L, 磷酸二氢钾 1.32 g/L, pH 7.0。

餐厨废水取自北京农学院学生食堂, 经过油水分离所得废水分别添加 5% 葡萄糖(调节 pH 5.5)和 10% 玉米淀粉(调节 pH 6.5)获得发酵培养基。灭菌后, 分别接种粘红酵母和地衣芽孢杆菌种子液进行发酵培养。

### 1.2 试验设计

**1.2.1 粘红酵母菌体肥料的制备。**废水发酵过程是在 5 L 发酵罐(装液量 3 L)中进行, 以 10% (V/V) 接种量接种粘红酵母种子液。在发酵过程中, 维持温度 30 °C, pH 5.5, 定时测定发酵液生物量和化学需氧量(COD)。发酵结束后, 离心获得菌体, 80 °C 烘烤直至水分完全蒸发供肥效测试用。

**基金项目** 北京市教委面上基金项目(KM201210020009); 北京市优秀人才基金项目(2013D005021000003)。

**作者简介** 薛飞燕(1982-), 女, 陕西吴堡人, 讲师, 博士, 从事生物质能源相关研究。\* 通讯作者, 工程师, 硕士, 从事生物学方面的研究。

**收稿日期** 2014-04-10

**1.2.2 地衣芽孢杆菌菌体肥料的制备。**废水发酵过程是在5 L发酵罐(装液量1.5 L)中进行,以10%(V/V)接种量接种地衣芽孢杆菌种子液。在发酵过程中,维持温度37℃、pH 6.5,定时测定发酵液固含量和淀粉酶活力。发酵结束后,离心获得固体物,80℃烘烤直至水分完全蒸发供肥效测试用。

**1.2.3 肥效测试的设计。**取田间表层2~3 cm以下土壤,分别装于口径为20 cm的盆栽钵中。除对照外,每盆分别添加0.2 g菌体肥料(混合菌肥同时设计0.5 g/盆施肥量),然后播种已发芽的芸豆种子(10粒/盆),在温度为25℃、湿度为80%的人工气候室培养,待出苗后保持芸豆幼苗为5棵/盆,并且定期测定其株高和径粗。

### 1.3 测定项目与方法

**1.3.1 COD测定。**用超纯水稀释培养液离心后上清液至COD快速测试仪的量程内(<1 500 mg/L),利用消解仪148℃消解2 h后冷却至室温,最后利用比色计直接测定<sup>[9]</sup>。

**1.3.2 生物量(固含量)测定。**发酵液水洗2~3次,离心、烘干至恒重,计算生物量(固含量,g/L)。

**1.3.3 高温淀粉酶活力测定。**按国标(GB8275-2009)测定。

## 2 结果与分析

**2.1 粘红酵母的发酵培养结果** 由图1可知,粘红酵母利用餐厨废水培养5~15 h内处于对数生长期,发酵24 h生物量可达10 g/L以上。在粘红酵母对数生长期内生长代谢旺盛,大量消耗培养基中的营养物质,发酵液COD浓度呈明显下降趋势,发酵24 h后COD浓度可以降低35%。

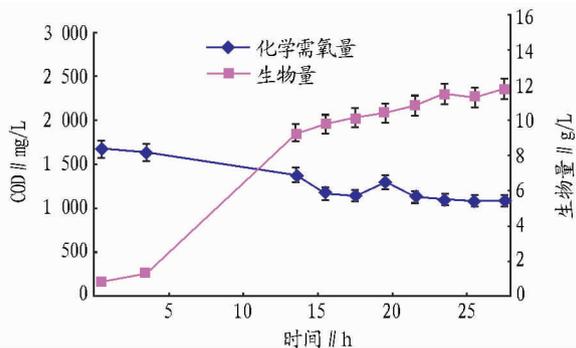


图1 粘红酵母发酵培养结果

**2.2 地衣芽孢杆菌的发酵培养结果** 由图2可知,地衣芽孢杆菌利用餐厨废水发酵培养,发酵24 h后可以检测到淀粉酶活力,并且随着培养时间的延长,地衣芽孢杆菌产生淀粉酶的活力不断增加,发酵60 h后可以增加到950 U以上,而在发酵过程中发酵液固含量有降低的趋势。这主要是因为所添加水不溶物玉米淀粉不仅可以作为发酵生长的原料有所消耗,而且可以作为底物因产生淀粉酶而部分水解。

**2.3 单一菌肥对芸豆豆苗生长的影响** 餐厨废水发酵培养粘红酵母和地衣芽孢杆菌获得菌体肥料后,以0.2 g/盆的施肥量分别进行芸豆盆栽肥效测试,在芸豆出苗、定苗后第5、8和10天分别检测豆苗的径粗和株高。由图3可知,粘红酵母和地衣芽孢杆菌以单一菌肥施用,对径粗增长均有促进作用,而粘红酵母菌肥促进芸豆豆苗径粗增长更明显,可以提高6%以上。由图4可知,粘红酵母菌肥和地衣芽孢杆

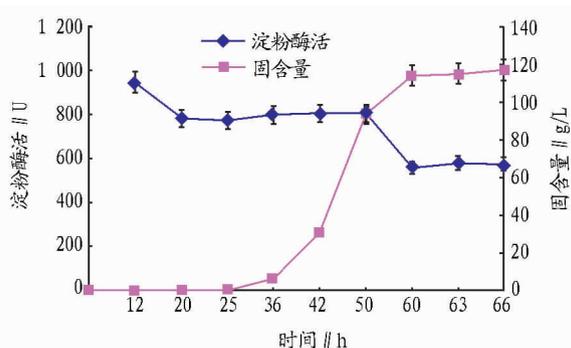


图2 地衣芽孢杆菌发酵培养结果

菌菌肥对豆苗株高的增长均有较明显的抑制效应,与对照相比地衣芽孢杆菌可以使豆苗株高降低25%以上。

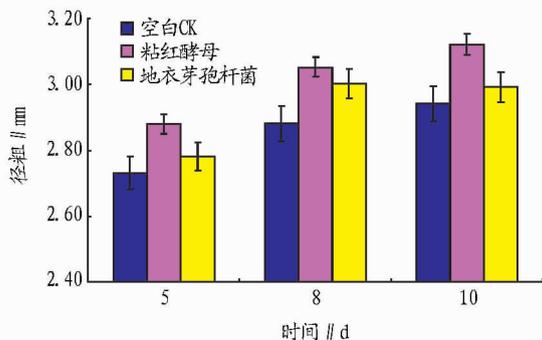


图3 单一菌肥对芸豆豆苗生长径粗的影响

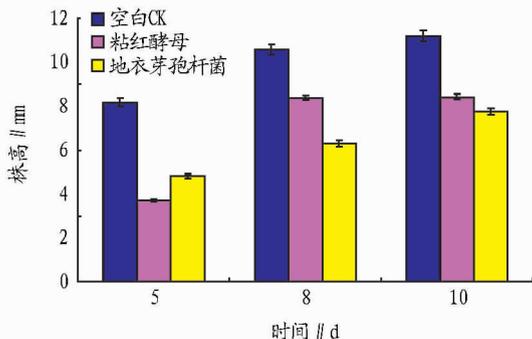


图4 单一菌肥对芸豆豆苗生长株高的影响

**2.4 混合菌肥对芸豆豆苗生长的影响** 餐厨废水发酵培养粘红酵母和地衣芽孢杆菌获得菌体肥料后,分别以不同比例和不同施肥量进行了芸豆盆栽肥效测试,并在芸豆出苗、定苗后第5、8和10天分别检测豆苗的径粗和株高。由图5A可知,粘红酵母菌肥有助于芸豆豆苗生长过程中径粗的增长,当施肥量为0.2 g/盆,随着豆苗生长时间的增加,粘红酵母菌肥促进其径粗增长作用越明显,第10天的检测结果与空白对照相比提高9%以上;由图5B可知,增加混合菌肥的总施肥量(0.5 g/盆)对芸豆豆苗生长的促进作用并没有明显提高,反而有减弱的趋势。可见,使用该混合菌肥时,施肥量不宜过大,否则不但造成资源浪费,而且有可能出现肥害效应。由图6可知,粘红酵母菌肥和地衣芽孢杆菌均对芸豆豆苗生长过程中株高的增长有抑制效应,而且随着施肥量和地衣芽孢杆菌比例的增加,这种抑制效应表现得更加明显,当施肥量为0.2 g/盆,粘红酵母和地衣芽孢混合比例为4:1

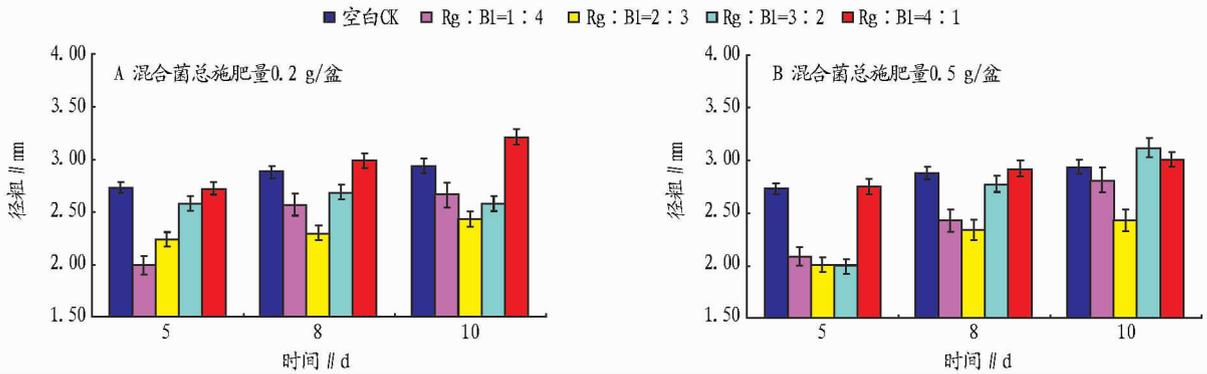


图5 混合菌肥对芸豆豆苗生长径粗的影响

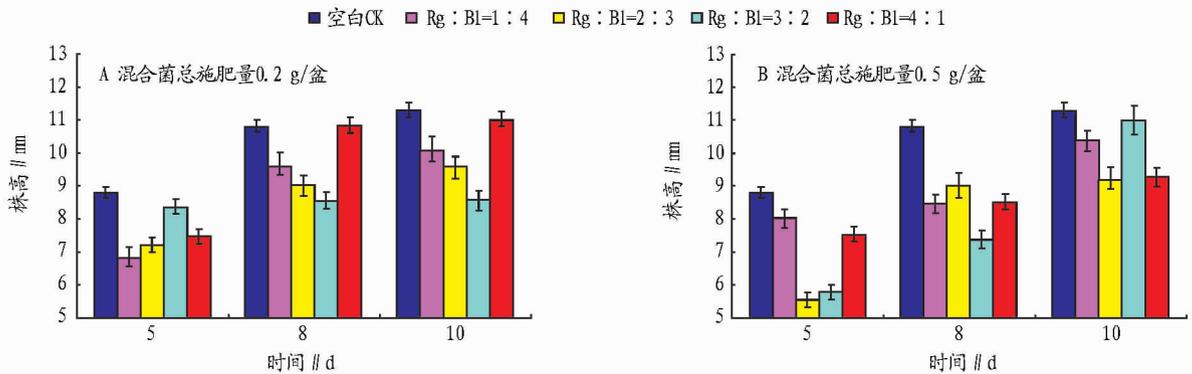


图6 混合菌肥对芸豆豆苗生长株高的影响

时,菌肥对豆苗株高增长的抑制作用较小。

### 3 结论与讨论

粘红酵母在餐饮废水中发酵培养可以积累菌体生物量,降低废水 COD 浓度,地衣芽孢杆菌在餐饮废水中发酵培养可以检测到淀粉酶活性。这表明粘红酵母和地衣芽孢杆菌具有资源化利用潜力,可以降低有机废水浓度,减少对环境的污染;与传统利用合成(或半合成)培养基的方法相比,以废水为原料生产微生物菌体的方法可以大大降低生产成本<sup>[14-15]</sup>。

粘红酵母和地衣芽孢杆菌作为生物菌肥单独施用于芸豆盆栽种植时,均表现为促进豆苗径粗增长,而抑制豆苗株高增长的效应。粘红酵母和地衣芽孢杆菌按照不同剂量、不同比例混合施用于芸豆盆栽种植时的作用有所差异,但对豆苗株高的增长一致表现为抑制效应。混合菌肥对植物生长的作用效果优于单一菌肥的现象与相关研究中试验结果<sup>[16-17]</sup>类似。粘红酵母、地衣芽孢杆菌与其他生物肥料(如植物根基菌肥和根瘤菌肥)的作用相似<sup>[18-19]</sup>,对芸豆幼苗径粗增长有明显的促进作用。研究表明,如果主要目标是追求生物菌肥对植物株高、径粗等生长指标的综合促进效应,那么可以在混合菌肥中增加粘红酵母的比例。粘红酵母和地衣芽孢杆菌的施用对芸豆幼苗株高的影响不显著甚至抑制的现象在复合菌肥应用于玉米<sup>[19]</sup>、物理刺激应用于大豆幼苗<sup>[20]</sup>、矮化剂作用于盆栽八宝景天<sup>[21]</sup>等研究中也观察到了。芸豆幼苗株高的增长受到抑制的作用可能是由于芸豆幼苗受菌肥的影响后阻碍了植物体内生长素的合成,或诱导乙烯等化合物增加。后续研究可以通过检测生物菌体和所施用植株内乙烯等化合物是否存在或含量高低,进一步揭示该生

物菌体肥料的作用机理。同时,所研究生物菌肥对植株增粗、矮化的作用启迪人们可以进一步研发具有抗倒伏等特效功能的生物肥料。

### 参考文献

- [1] 李东坡,武志杰. 化学肥料的土壤生态环境效应[J]. 应用生态学报, 2008,19(5):1158-1165.
- [2] 刘鹏,刘训理. 中国微生物肥料的研究现状及前景展望[J]. 农学学报, 2013,3(3):26-31.
- [3] 陈谦,张新雄,赵海,等. 生物有机肥中几种功能微生物的研究及应用概况[J]. 应用与环境生物学报,2010,16(2):294-300.
- [4] FAHEED F A, FATTAH Z AE. Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant[J]. Journal of Agriculture & Social Sciences, 2008,4:165-169.
- [5] SUJANYA S, CHANDRA S. Effect of part replacement of chemical fertilizers with organic and bio-organic agents in ground nut, *Arachis hypogea* [J]. Journal of Algal Biomass Utilization, 2011,2(4):38-41.
- [6] 张菊,李金敏,张志焱,等. 地衣芽孢杆菌的研究进展[J]. 中国饲料, 2012(17):9-11.
- [7] 陶光灿,王素英,王玉平,等. 芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.) 10 株细菌混合制剂对 4 种作物出苗及苗期生长的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2003,9(6):598-602.
- [8] XUE F Y, ZHANG X, LUO H, et al. Studies on lipid production by *Rhodotorula glutinis* fermentation using monosodium glutamate wastewater as culture medium[J]. Bioresource Technology, 2008,99:5923-5927.
- [9] XUE F Y, GAO B, ZHU Y Q, et al. Pilot-scale production of microbial lipid using starch wastewater as raw material[J]. Bioresource Technology, 2010, 101:6092-6095.
- [10] YOLANDA G G, RAFAEL H, ZHANG G C, et al. Lipids accumulation in *Rhodotorula glutinis* and *Cryptococcus curvatus* growing on distillery wastewater as culture medium[J]. Environmental Progress & Sustainable Energy, 2013,32(1):69-74.
- [11] ALPER K, YAHYA L, SERPIL T. Development of process conditions for biodegradation of raw olive mill wastewater by *Rhodotorula glutinis* [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2012,75:75-82.

表1 湟水河沉积物及黄土元素含量比值计较

地段	K/Na	K/Ca	Al/Na	Fe/Mg
上游	1.09	0.84	5.51	1.67
中游	1.12	0.44	5.66	1.32
下游	1.16	0.48	5.83	1.25
支流	1.26	0.56	6.51	1.46
黄土	1.26	0.29	6.67	1.71

注:黄土数据引自刘东升《黄土与环境》<sup>[4]</sup>。

他来源的沉积物,除少部分残留原地外,大部分被搬运到合适的地点沉积。不同的沉积物有不同的沉积作用特点,原始碎屑物质和粘土物质的搬运沉积服从力学定律,在水和风介质中均是通过物理沉积作用形成碎屑和粘土沉积物,而溶解物质则服从化学定律,以化学沉积作用方式形成沉积物。在干旱半干旱地区,河谷是最常见的沉积区域,河谷沉积物可反映流域风化程度和特征。溶解物质可以呈胶体溶液或真溶液被搬运,这与物质的溶解度有关,如 Al、Fe、Si、Mn 的氧化物难溶于水,常呈胶体溶液搬运,而 Ca、Na、Mg 的岩类则呈真溶液搬运。一般认为控制沉积物组成的因素主要包括源岩(流域岩石组成)、构造及气候影响的化学风化与物理风化、水动力作用、沉积盆地地形、沉积环境、沉积介质的物理化学性质、成岩及变质作用等。研究区尽管有较老的岩层出露,但大部分被黄土覆盖且黄土厚度大,可以推断沉积物更多地继承了黄土中多数元素的组成特征,与出露的基岩相关性不高。黄土的矿物成分以石英(约占黄土矿物总质量的 50%)、长石(约占黄土矿物总质量的 20%)、碳酸盐类矿物(约占黄土矿物总质量的 10%)和粘土矿物(包括高岭石类、伊利石类和蒙脱石类,约占黄土矿物总质量的 10%)为主<sup>[4]</sup>。通过与黄土、大陆表层含量的对比(图 1)发现,该区河流沉积物中 Ca、Al 相对富集,Na 亏损,Mg、K 含量与大陆壳表层含量基本保持一致。由于较弱的化学风化强度与处于化学风化的初级阶段(脱 Ca、Na 阶段),黄土中斜长石风化,而钾长石未开始风化或风化极少,这从 K 的含量与大陆壳表层含量基本一致可以得出结论。斜长石的风化产生 Ca、Na 元素,而 Na 易流失,故 Ca 富集于沉积物中,研究区中下游大量蒸发岩(石膏、芒硝等)分布较多,且经流失侵蚀后

大量出露,Ca 的富集与此也有关系,Mg 的迁移能力较强,Al 和 Fe 等迁移能力弱,故残积源地或随着物理搬运进行再次沉积,造成 Al 的富集。这与表 1 和图 1 显示的结果相吻合。

### 3 结论与讨论

(1)通过对湟水河流域不同流域段河床沉积物常量元素分析和 CIA 研究发现,研究区内,黄土风化基本代表了流域表层物质的化学风化,化学风化处于初级阶段(即脱 Ca、Na 阶段),化学风化较弱,表层物质的物理风化明显强于化学风化;湟水流域 CIA 值大致反映了化学风化的程度,在中游段 CIA 低,上游和下游段 CIA 明显较高,具有更强的化学风化过程;流域不同地貌单元内元素的迁移、富集和流失,与化学风化有关,其对沉积物中元素贡献率的大小有待深入研究。

(2)水动力作用也会影响沉积物的元素含量,所以不能单纯地用元素含量比值进行化学风化作用强弱的判断,文中西宁段湟水河的水动力条件受人工建造物的影响就是一个典型例证。除此之外,沉积地形和环境、沉积介质的物理化学性质等其他条件、河流沉积区若有地下水出露,肯定会影响到沉积物的元素含量,这些因素在以后的研究中予以重视。干旱半干旱区,开展沉积物风化研究,可为研究生态环境治理的成效、流域水土流失的质和量提供参考依据。

### 参考文献

- [1] NESBITT H W, YOUNG G M. Early proterozoic climates and plate motions inferred from major element chemistry of lutites [J]. *Nature*, 1982, 299: 715 - 727.
- [2] 赵串串,董旭,辛文荣,等. 青海湟水河流域水土流失原因及防治措施分析[J]. *水土保持研究*, 2008, 15(6): 200 - 202.
- [3] 李长松. (西宁-乐都幅)1:20 万区域水文地质普查报告[R]. 青海省第二水文地质队, 1984.
- [4] 刘东生. 黄土与环境[M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [5] 冯连君, 储雪蕾, 张启锐, 等. 化学蚀变指数(CIA)及其在新元古代碎屑岩中的应用[J]. *地学前缘*, 2003(4): 539 - 543.
- [6] 陈建强, 周洪瑞, 王训练. 沉积学及古地理学教程[M]. 北京: 地质出版社, 2004: 14 - 17.
- [7] 杨守业, 李从先. 长江与黄河沉积物元素组成及地质背景[J]. *海洋地质与第四纪地质*, 1999, 19(2): 19 - 25.
- [8] 杨守业, 李从先, 李徐生, 等. 长江下游下蜀黄土化学风化的地球化学研究[J]. *地球化学*, 2001, 30(4): 402 - 406.
- [9] 杨守业, JUNG H S, 李从先, 等. 黄河、长江与韩国 keum、Yeongsan 江沉积物常量元素地球化学特征[J]. *地球化学*, 2004, 33(1): 99 - 106.
- [10] 马文鹏, 任海伟. 芸豆蛋白的提取及其营养价值评价[J]. *食品科技*, 2013, 38(1): 75 - 79.
- [11] 王娅亚, 薛飞燕, 王有年, 等. 餐厨垃圾转化为生物肥料的探索研究[J]. *农学学报*, 2013, 3(1): 36 - 40.
- [12] 卫乐生, 张盼盼, 马小彪, 等. 响应面优化粘红酵母产油脂培养基的初步研究[J]. *宁德师范学院学报*, 2013, 25(4): 361 - 365.
- [13] 丰贵鹏, 杨丽云. 地衣芽孢杆菌发酵培养基的优化[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(15): 6862 - 6864.
- [14] 姜明. 圆褐固氮菌、巨大芽孢杆菌复合菌肥的制作及应用效果[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(28): 15075 - 15076.
- [15] YANG J T, LIU X Y, SHI Y. Effect of different mixed fertilizer on yield, quality and economic benefits in *Stevia rebaudiana* Bertoni [J]. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2013, 5(5): 588 - 591.
- [16] 荣良燕, 姚拓, 刘青海, 等. 复合菌肥代替部分化肥对玉米生长的影响[J]. *草原与草坪*, 2012, 32(3): 65 - 69.
- [17] 高俊扬. 生物有机肥料在菠菜上的应用效果研究[J]. *现代农业科技*, 2010(1): 112 - 114.
- [18] 颜景波, 于洪波. 大豆幼苗接触刺激对生育及产量的影响[J]. *大豆通报*, 1995(5): 9.
- [19] 张彬, 杜芳. 不同矮化剂对盆栽八宝景天矮化效应研究[J]. *山西农业大学学报*, 2013, 33(6): 488 - 492.

(上接第 3543 页)