

## 双孢蘑菇秸秆鸡粪发酵技术研究进展

张丽<sup>1</sup>, 盛斌<sup>2</sup>, 李常凤<sup>1</sup>, 刘方志<sup>1</sup>, 闫晓明<sup>1\*</sup>

(1. 安徽省农业科学院棉花研究所, 安徽合肥 230001; 2. 合肥学院生物与环境系, 安徽合肥 230601)

**摘要** 双孢蘑菇是世界上栽培最为广泛的蘑菇品种, 生产一种适合栽培双孢蘑菇的基质称为堆肥。综述了双孢蘑菇生产过程中关键的3个发酵阶段、堆肥过程中的微生物及酶活性变化, 以及影响双孢蘑菇生长的几个主要因素(堆肥基质、环境、菌种), 旨在为双孢蘑菇的标准化种植提供参考。

**关键词** 双孢蘑菇; 堆肥发酵; 微生物; 酶活性; 影响因素

**中图分类号** S141.4 **文献标识码** A

**文章编号** 0517-6611(2021)01-0016-05

**doi**: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.01.004



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Research Progress on the Fermentation Technology of *Agaricus bisporus* Straw Chicken Manure

ZHANG Li<sup>1</sup>, SHENG Bin<sup>2</sup>, LI Chang-feng<sup>1</sup> et al (1. Institute of Cotton Research, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230001; 2. Department of Biology and Environmental Engineering, Hefei University, Hefei, Anhui 230601)

**Abstract** *Agaricus bisporus* is the most widely cultivated mushroom in the world. A substrate suitable for cultivating *Agaricus bisporus* was called compost. The three key fermentation stages in the production process of *Agaricus bisporus*, the changes of microorganisms and enzyme activities during the composting process, and several major factors that affect the growth of *Agaricus bisporus* (compost substrate, environment, strain) were discussed in this paper. The aim of this study was to provide reference for the standardized cultivation of *Agaricus bisporus*.

**Key words** *Agaricus bisporus*; Compost fermentation; Microorganisms; Enzyme activity; Influencing factors

双孢蘑菇是一种担子菌真菌, 在一种特殊工艺的堆肥上大量产生, 供人类食用<sup>[1]</sup>。它是世界上栽培最广泛的食用菌品种<sup>[2]</sup>。分解担子菌的真菌双孢菇(*Agaricus bisporus*)也被称为白色纽扣蘑菇, 是全球第四大最常见的食用菌, 占全球产量的15%<sup>[3]</sup>。据估计, 2009年全世界双孢蘑菇的产量约为400万t<sup>[4]</sup>。2013年, 我国是双孢蘑菇的第一大生产国, 占世界双孢蘑菇总产量的54%<sup>[5]</sup>。双孢蘑菇除了具有重要的商业价值外, 还是一种地理分布广泛的植物生物降解真菌, 在陆地生态系统碳循环中起着重要的生态作用<sup>[6]</sup>。

在荷兰, 为进行商业生产, 双孢蘑菇在堆肥上生长, 该堆肥以小麦秸秆、马粪或鸡粪、石膏和水为基础。双孢蘑菇栽培的关键阶段之一就是堆肥, 堆肥过程中养分平衡非常重要, 尤其是碳和氮含量<sup>[7]</sup>。在世界其他地区, 原材料可能会有所不同<sup>[8]</sup>。蘑菇堆肥的传统成分是马粪草垫, 它为堆肥微生物群提供了碳源和氮源, 并满足蘑菇的后续营养需求<sup>[9]</sup>。由于材料的可用性和可变性困难, 秸秆堆肥配方被开发出来。在大多数国家, 尤其是美国和欧洲, 小麦秸秆比黑麦、大麦和燕麦等其他谷物秸秆更可取, 因为它在堆肥过程中能够保持其结构, 并且分布广泛<sup>[10]</sup>。在我国, 麦秆、稻秆和鸡粪分别作为主要碳源和氮源, 豆粕作为附加氮源<sup>[11]</sup>。在我国南方和西南地区, 水稻秸秆、牛粪和石膏更受欢迎, 因为这些材料随处可见<sup>[12]</sup>。根据 Miller 等<sup>[13]</sup>的说法, 蘑菇栽培堆肥配方的成分分为3类: 一是结构复杂且难以分解的物质, 包括大量纤维素、半纤维素和木质素(秸秆、甘蔗渣和动物垃

圾); 二是堆肥活化剂材料, 包括大量蛋白质、脂肪和碳水化合物(尿素、大豆麸皮、棉籽等); 三是无机调理剂(石膏和石灰)<sup>[14]</sup>。作物秸秆为蘑菇菌丝体的生长提供营养, 并且其物理结构能够确保添加水分和其他营养物质时, 基质中形成的空隙允许有氧条件促进生物降解; 畜禽粪便可以促进发酵以及作为缓释氮源和碳源; 石膏能够沉淀悬浮胶体, 提高堆肥品质<sup>[15]</sup>。

堆肥过程包括2个阶段(I和II)。在第I阶段, 秸秆先用水湿润, 然后与其他混合物混合, 这个阶段在欧洲国家需要5~7 d, 在我国需要15~21 d<sup>[2,7]</sup>。此过程中, 由于嗜热微生物大量繁殖和活动, 堆肥温度上升至80℃。随后进行巴氏杀菌过程(第II阶段), 堆肥在45~50℃条件下发酵约4~9 d, 直到氨气水平对双孢蘑菇菌丝体无毒, 之后温度降低至25℃左右<sup>[3,16]</sup>。在第II阶段结束时, 堆肥可用于双孢蘑菇菌丝体的生长<sup>[11]</sup>。事实上, 双孢蘑菇菌丝体接种在第II阶段的堆肥上生长就是第III阶段, 也可称为3次发酵<sup>[8]</sup>。作物秸秆是一种主要的农业废弃物, 而堆肥发酵是一种有价值的固体废物管理形式, 它为蘑菇种植提供基质和肥料, 并能提高农民的就业率和收入<sup>[2]</sup>。

## 1 双孢菇堆肥发酵技术研究

**1.1 培养料配方** 在欧洲, 双孢蘑菇堆肥是由小麦秸秆(占总干重的40%~50%)、马粪(占总干重的20%~25%)、禽畜粪便(占总干重的10%~15%)和石膏(占总干重的5%~10%)混合制成<sup>[17]</sup>。根据黄建春等<sup>[18]</sup>的报道, 荷兰常用的双孢蘑菇堆肥配方分为2种, 一种是马粪配方, 其中马粪1 000 kg、鸡粪100 kg、石膏30 kg、水1 000 L; 另一种是秸秆配方, 通常秸秆1 000 kg、鸡粪800 kg、石膏75 kg、水5 000 L。Jurak 等<sup>[4]</sup>则指出, 荷兰堆肥公司 CNC-C4C 的培养料配方为新鲜马粪63%、石膏2%、浓度为20%的硫酸铵溶液1%、渗滤液17%、鸡粪11%、稻草4%和水2%。国内学者侯晓伟等<sup>[19]</sup>

**基金项目** 安徽省财政厅创新基金项目(2020YL053); 安徽省科技重大专项(912238733011)。

**作者简介** 张丽(1992—), 女, 安徽潜山人, 实习研究员, 硕士, 从事土壤环境影响研究。\*通信作者, 研究员, 从事秸秆综合利用研究。

**收稿日期** 2020-05-24

提出每 100 m<sup>2</sup> 的培养料中,大麦秸秆 1 500 kg、牛粪 1500 kg、过磷酸钙 60 kg、石膏粉 60 kg、石灰 40 kg、辅料尿素 20 kg、油渣 120 kg。万鲁长等<sup>[20]</sup>使用的培养料配方(100 m<sup>2</sup> 的栽培面积)为麦草 2 600 kg、双孢菇专用肥 300 kg(替代鸡粪等)、石膏粉 150 kg、石灰粉 50 kg。蔡开地等<sup>[21]</sup>提出按 130 m<sup>2</sup> 栽培面积计算,干稻草 2 500 kg、干牛粪 500 kg、尿素 15 kg、石膏粉 50 kg、碳酸钙 40 kg 等。也有文献报道双孢菇培养料应按照草:粪=6:4或 5:5 的比例配置<sup>[22-23]</sup>,或麦草:鸡粪:石膏≈1:0.8:0.08<sup>[24]</sup>。可见,国内外各地的培养料配方存在一定差异。虽然堆肥使用的原料配方可能因秸秆存放时间(即是否存储已久或为刚收获)以及鸡粪的氮含量高低而有所不同,但一般来说,堆肥应遵循每吨秸秆含 20~21 kg 氮的原则(约 450 kg 鸡粪、1 000 kg 秸秆)<sup>[25]</sup>。

**1.2 一次发酵** 秸秆的含水量很低,而堆肥混合物需要较高的湿度分解有机物<sup>[26]</sup>。因此进行一次发酵前,要对秸秆进行预湿。可将秸秆浸泡一定时间,或者采用喷水装置将水喷洒至秸秆上,使含水量达到 75% 左右<sup>[15,20,27-29]</sup>。将秸秆、粪、水混匀并建堆,同时供氧促使堆肥中微生物活化增殖而升温,温度可达到 45℃ 以上(甚至可达 70~80℃),预湿一般需要 1~3 d<sup>[27-28,30]</sup>。

将混合后的培养料装入料仓,进行一次发酵,也被称为前发酵<sup>[20,27]</sup>,此过程需要 10~14 d<sup>[26,29]</sup>。这一阶段主要是软化秸秆和其他原料、分解可溶性糖并降低 C/N 比<sup>[31]</sup>。在第一阶段堆肥过程中,生物(细菌)活性增加<sup>[3]</sup>。微生物的强烈活动将热量(温度在 24~36 h 内可能超过 80℃)、二氧化碳(CO<sub>2</sub>)和氨(NH<sub>3</sub>)等物质释放到基质和大气中<sup>[26]</sup>。培养料进仓每隔 2~3 d 翻仓,保证温度不能下降,并且在翻仓时调节水分,一般含水率在 70% 以上<sup>[20]</sup>。

一次发酵阶段中,通常是嗜中温菌群开始繁殖,这种微生物将部分碳水化合物和蛋白质转化为热量和能量。随着温度的升高,中温微生物会被嗜热微生物区系所取代<sup>[17,26]</sup>。

**1.3 二次发酵** 经过一次料仓发酵的培养料需要进入二次发酵隧道进行巴氏灭菌,时间 7~9 d<sup>[27,29]</sup>。二次发酵也被称为后发酵<sup>[20,27]</sup>,国外将二次发酵阶段主要分为 2 个过程,第 1 个过程是巴氏灭菌期,第 2 个过程是转化期<sup>[26,31-32]</sup>。根据 Vieira 等<sup>[26]</sup>的研究,巴氏杀菌期的设定值通常在 57~62℃,持续 2~8 h,以杀死竞争物种和病原体等;转化期的温度通常在 47~48℃,持续 5~8 d。Straatsma 等<sup>[33]</sup>也曾报道,培养料在二次发酵阶段的巴氏杀菌期(56~60℃)保持 8 h,最后于 45℃ 的转化期停留 7 d,直到清除空气中的 NH<sub>3</sub> 为止。华尔山<sup>[34]</sup>根据二次发酵期间的料温变化将此过程分为 3 个阶段,即升温阶段(温度快速升至 60~62℃,维持 6~8 h)、持温阶段(料温维持在 50~55℃,4~6 d)、降温阶段(首先将温度降至 45℃,最后通风将料温迅速降低)。赵彦岗<sup>[29]</sup>在总结荷兰双孢菇标准化种植技术时,将二次发酵阶段分为平衡期、升温期、巴氏灭菌期、降温期、转化期 5 个时期。康平等<sup>[28]</sup>将二次发酵阶段分为 6 个时期,在降温期后增加了腐熟期,与杨国良等<sup>[35]</sup>的报道一致。

总结国内外二次发酵技术工艺主要过程如下<sup>[23]</sup>:①均温期。隧道填料后,通过给予循环风,料层不同位置料温趋于一致,在 42~45℃。②升温期。料温一致后,逐步将温度升高至 58℃。③巴氏灭菌期。料温 58~60℃ 保持 8 h,此过程主要是利用巴氏消毒的原理,将培养料内残留的杂菌虫害、竞争物种等杀死,但料温不能偏高,如偏高会损伤发酵有益微生物<sup>[26,35]</sup>。④冷却期。将隧道内料温逐渐降至 48~53℃。⑤选择培养期。保持隧道内温度在 44~45℃,让放线菌等有益微生物大量繁殖,直至隧道内的氨气完全消失为止<sup>[10,17]</sup>。⑥降温播种期。将温度降至 24~25℃,准备接种双孢菇菌株<sup>[28-29,33,35-36]</sup>。

经过二次发酵隧道之后的培养料质量数据应该是水分 65%~68%,pH 7.2~7.5,氨气≤5%,含氮量在 2% 左右<sup>[20,27,29]</sup>。

**1.4 三次发酵** 将一定比例的菌种与二次发酵料充分混匀,让菌种在 25℃ 左右培养约 15 d<sup>[8,36]</sup>,这个过程称为发菌阶段,也可称为三次发酵阶段<sup>[27,29-30]</sup>。三次发酵技术从荷兰引进,具体为二次发酵结束播种后,直接进入隧道进行第 3 次密闭发菌<sup>[37]</sup>。发菌阶段应严格控制温度和湿度,促进菌丝快速生长<sup>[30]</sup>。一般 15 d 左右,菌丝体就会长满整个培养料<sup>[38]</sup>,此时可将菌丝体填进菇房,进行后续培养。

部分学者认为双孢菇培养料的堆肥过程分为 2 个阶段,即前文所述的一次发酵和二次发酵,认为经过二次发酵技术的培养料达到双孢蘑菇生长标准后即可播种<sup>[2,17,26]</sup>;也有学者认为双孢蘑菇培养料发酵技术分为 3 个阶段(即包括隧道发菌过程)<sup>[7,8,29-30,39]</sup>。调查发现,采用三次发酵技术生产的双孢蘑菇产量稳定,且始终高于使用二次发酵技术的蘑菇产量<sup>[37]</sup>。也有学者报道采用隧道发菌方式,缩短了菇房生长时间(由 60 d 缩短至 45 d),双孢蘑菇栽培由每年的 6 轮增加到 8 轮,提高了产量及经济效益<sup>[40]</sup>。

## 2 堆肥发酵过程中的微生物及酶活性变化研究

堆肥是通过有氧呼吸将不稳定的富含有机物的材料转化为稳定的物质<sup>[41]</sup>,该过程较为复杂,涉及多种物质变化。在此仅简单介绍发酵过程中的微生物和相关酶活性变化。

**2.1 微生物** 在堆肥过程中,作为驱动力的微生物在降解有机物方面起着关键作用<sup>[42]</sup>。微生物包括细菌、放线菌和真菌,是分解堆肥过程中有机物的主要分解者<sup>[43]</sup>,由于其代谢的广谱性,微生物的影响力很大<sup>[42]</sup>。在堆肥过程中,细菌在降解蛋白质、脂类、纤维素、木质素甚至有毒化合物方面发挥着重要作用<sup>[44-45]</sup>。此外,与真菌和放线菌<sup>[46]</sup>相比,细菌对严酷条件(高温或低 pH)的适应能力显著<sup>[47]</sup>。

Ren 等<sup>[47]</sup>利用 16S 高通量测序技术测定了秸秆堆肥过程中微生物的种群变化,结果发现,堆肥各阶段细菌群落结构和组成存在显著差异。拟杆菌门和变形菌门是各发酵阶段中最丰富的门,放线菌门仅在中温期占优势。根据 Shannon-Wiener 指数和 Simpson 多样性指数,中温期的细菌群落多样性高于其他时期。李云福等<sup>[48]</sup>的研究结果与此类似,门水平上的优势菌群为变形菌门等;堆肥建堆后,微生物种类和数量大幅上升,这可能是由于堆肥初期的营养物质较为

丰富,杂菌生长较快。随着发酵进程的推进,微生物的多样性开始下降,这可能是由于高温嗜热微生物消耗了部分营养物质,从而导致其他杂菌数量减少<sup>[19]</sup>。王鸿磊等<sup>[49]</sup>研究发现,在培养料发酵过程中,细菌数量最多,其次为放线菌,而霉菌的数量最少。Sharma等<sup>[25]</sup>研究认为,堆肥过程中的中温菌群包括真菌和单细胞细菌,而嗜热菌群则包含高比例的放线菌。李敏<sup>[50]</sup>研究提出,细菌在堆肥初期发挥作用,其破坏木质纤维素的外部结构,并释放出热量,让堆肥温度不断升高。而在发酵后期,真菌及放线菌则利用自身优势使木质纤维素内部结构发生变化,并分泌木质纤维素降解酶,从而促进培养料物质的降解和转化。

**2.2 酶活性** 微生物降解双孢菇堆肥中的秸秆纤维是释放碳水化合物、为双孢菇菌丝体提供营养的关键<sup>[51]</sup>。堆肥过程中的酶活性直接影响各纤维素的降解<sup>[52]</sup>。事实上,酶活性越高,各纤维素的降解速率越快,反之,则越慢<sup>[53]</sup>。目前关于堆肥过程中酶活性变化的报道较少,有研究指出最普遍的碳水化合物降解酶是木质素降解酶、漆酶和锰过氧化物酶(MnP),以及半纤维素降解酶的半纤维素酶、木聚糖酶和 $\beta$ -木聚糖酶等<sup>[4,17,36,39,51]</sup>。这些不同的水解酶被认为可以控制不同底物的降解速率,并且它们是各种降解过程的主要介质<sup>[54]</sup>。对各种酶活性的监测可提供有关重要营养元素(如碳和氮)动力学的有用信息,并且有助于理解堆肥过程中发生的转化<sup>[55]</sup>。参照Liu等<sup>[43]</sup>的研究,蛋白酶被认为是有机物分解的指标,是堆肥过程中的重要酶。脲酶活性与尿素水解成铵和二氧化碳有关<sup>[56]</sup>。Liu等<sup>[43]</sup>研究发现纤维素酶活性随着发酵进程而逐渐增加, $\beta$ -葡萄糖苷酶的活性与纤维素酶类似,在堆肥开始时其活性增加;木聚糖酶活性先上升后降低;脱氢酶可用于衡量整体的微生物活性,在堆肥过程中,其活性不断变化<sup>[56]</sup>。Savoie<sup>[51]</sup>在研究中报道,漆酶活性是双孢菇在堆肥中定植的一个标记,锰过氧化物酶与此相似;研究结果显示,0~3 d 锰过氧化物酶活性快速降低,表明微生物群落组成可能发生了变化,并通过多糖酶活性变化推测一个受双孢菇影响的群落取代堆肥的初始微生物群落。蔡盼盼等<sup>[53]</sup>研究指出,羧甲基纤维素酶(CMC)和木聚糖酶及木糖苷酶分别在降解纤维素和半纤维素过程中起到一定作用,因此酶活性可以作为检验发酵料质量的指标之一。姚琴<sup>[57]</sup>研究表明,不同的发酵阶段,各个酶的活性也在不断发生变化。总体上,微生物数量越多,酶活性越强,则纤维素、木质素、灰分等的分解速率也就越快。秦改娟等<sup>[58]</sup>的研究同样表明,双孢菇生产中的酶活性与堆肥微生物量息息相关,而酶活性高低也是影响双孢菇产量大小的重要原因。

### 3 双孢菇生长的影响因素研究

**3.1 堆肥基质** 堆肥是双孢菇保持营养循环的关键阶段之一,对维持营养物质特别是碳和氮的平衡具有重要意义<sup>[14,59]</sup>。栽培双孢菇的基质种类多样,不同农作物秸秆、废弃物组合的基质,其堆肥后生产的双孢菇质量和产量也会有所不同<sup>[60]</sup>。

De等<sup>[14]</sup>以燕麦(*Avena sativa*)秸秆和臂型草属(*Bra-*

*chiaria* sp.)植物2种堆肥配方进行了双孢菇的培养试验,结果显示,以燕麦为基质的堆肥是培养双孢菇的最佳肥料。Noble等<sup>[9]</sup>比较了不同秸秆类型(小麦、油菜、豆类和亚麻秸秆)、有机氮源和无机氮源对双孢菇堆肥排放、产量等的影响,结果发现,氮含量较低的原料(可可壳、硫酸铵等)比氮含量较高的材料(家禽粪便、尿素等)产蘑菇量低;小麦秸秆比油菜秸秆堆肥的蘑菇产量更高;然而与小麦秸秆相比,混合肥料中的油菜秸秆比例有助于减少厌氧带的形成和臭味排放,因为它比小麦秸秆能够更好地保持其结构和孔隙度。Diamantopoulou<sup>[61]</sup>等研究发现,0.05%和0.10%的CaCl<sub>2</sub>对双孢菇的平均重量有显著影响,而添加0.25%的CaCl<sub>2</sub>对蘑菇的颜色有一定的改善作用。Colmenares-Cruz等<sup>[3]</sup>首先对基质(玉米芯、安哥拉草和这2种成分与春树木屑的混合物)进行了测试,结果显示,在混合物和安哥拉草上单独栽培蘑菇的效果相近;然后将大豆、麦麸等各辅料分别添加到安哥拉草的堆肥基质上进行了2次补充试验,结果发现,双孢菇的最高产量是以9%的添加量获得,其中大豆、黑豆、麦麸、奇异籽各占25%。De等<sup>[59]</sup>研究发现,菌株和堆肥类型对蘑菇产量有一定的影响,并且蘑菇中的粗蛋白、灰分和粗纤维含量也与双孢菇菌株和秸秆类型有关。国内学者李晓博等<sup>[62]</sup>选用4种农作物秸秆和废弃物作为堆肥发酵的基质,比较了各基质双孢菇的出菇情况和经济效益,结果显示,使用棉籽壳配方基质的双孢菇产量和利润最高,其次是稻草,然后依次是玉米芯和玉米秸秆。与孙亚芳等<sup>[60,63]</sup>的研究结论一致,说明不同堆肥基质的双孢菇产量、营养价值等存在较大差异。

**3.2 环境因素** 从微生物学角度来说,堆肥可以被认为是微生物群在不断适应一直变化的营养供应和环境条件(温度、水分、二氧化碳、氧气和氨含量)<sup>[12]</sup>。因此,菌丝的生长受营养物质浓度高低、有毒物质积累、次生代谢产物的产生以及pH等因素的影响,从而影响双孢菇的生长<sup>[59,61,64]</sup>。堆肥是自热、好氧的固相过程,由微生物驱动分解有机材料<sup>[12]</sup>。堆肥的整个过程中,若周围环境条件无法达到堆肥所需要的严格标准,那么堆肥质量一定会受到影响,则双孢菇的产量与质量等也会大大降低<sup>[25]</sup>。例如在堆肥第1阶段中,进入一次发酵隧道的培养料要进行转仓,并且在发酵过程中也会进行通风操作,目的就是避免厌氧<sup>[2]</sup>。同时还会补充水分,以供微生物生长需要<sup>[2,20]</sup>。堆肥第2阶段主要是巴氏灭菌过程,此过程的温度设定值一般为56~62℃<sup>[26,30]</sup>,若温度太高会杀死有益发酵细菌,太低则可能无法达到灭菌效果,从而让杂菌继续生长<sup>[35]</sup>。巴氏灭菌结束后需要降温,标准是降到氨气浓度为0为止,因为氨气对双孢菇的生长有毒<sup>[65]</sup>。Wiegant等<sup>[66]</sup>研究发现,二氧化碳能够提高双孢菇菌丝体的生长速率。Noble等<sup>[9]</sup>研究表明,增加堆肥的氮含量会增加NH<sub>3</sub>浓度和N损失,同时也需要增加清除NH<sub>3</sub>所需的时间。Straatsma等<sup>[10]</sup>研究指出接种双孢菇时,要控制的堆肥质量参数包括NH<sub>3</sub>浓度、pH、N浓度等,因此,控制堆肥过程中的环境条件等因素至关重要,不仅关系堆肥质

量,更影响双孢蘑菇栽培的最终质量与效益<sup>[25,67]</sup>。

**3.3 菌种差异** 双孢蘑菇的产量和质量高低与其自身菌种类型有关,许多可食用的蘑菇是高质量的食物,含有丰富的蛋白质、几丁质、维生素和矿物质,并且热量和脂肪含量低。然而,蘑菇的营养成分取决于蘑菇的种类、品系等<sup>[59]</sup>。事实上,菌种对双孢蘑菇生长的影响早有研究。Pontes 等<sup>[6]</sup>选用 6 个不同生长特性的野生型菌株(012 DD-1、065 BP-8、088 FS-44、147 JB-41、219 30P 和 245 AMA-7)以及 2 个商业菌株(A15 和 U1),比较各双孢蘑菇品种在堆肥条件下的产量,结果显示,与 A15 相比,065 BP-8 和 088 FS-44 在整个堆肥培养物中分泌更高的  $\beta$ -1,4-D 半乳糖苷酶活性,并分别在堆肥 30 和 39 d 产生更高的  $\beta$ -1,4 葡糖苷酶活性,而高酶活性与 065 BP-8 所获得的最高蘑菇产量(4.1 kg/箱)密切相关。商业菌株 A15 的蘑菇产量(3.8 kg/箱)较好,而菌株 147 JB-41 的堆肥生长很差,没有产生子实体。王芳等<sup>[63]</sup>选用了 As2796、W192 和 W2000 这 3 种双孢蘑菇菌株来研究其栽培技术,结果发现不同菌株的双孢蘑菇营养指标含量不同,品种间存在差异。李晓博等<sup>[62]</sup>选用了同样的 3 个菌株,研究结果相似,不同的双孢蘑菇菌株,其子实体营养存在较大区别。Pontes 等<sup>[6]</sup>通过使用高纯度单糖和多糖以及几种植物生物质原料,检测到野生型双孢蘑菇菌株和 A15 菌株在碳利用方面存在差异,由于 A15 菌株能够在高度受控的堆肥过程中生产出具有良好商业品质的蘑菇,因此已被选择用于商业种植<sup>[68]</sup>。De 等<sup>[59]</sup>比较了 3 种菌株(ABI-07/06、ABI-05/03 和 PB-1)在堆肥中的双孢蘑菇鲜重、生产力和生物效率,结果发现,菌株 ABI-07/06 的表现最佳。不同品系的双孢蘑菇菌株对堆肥中养分的吸收情况有所差异,受环境影响的能力也有所不同,从而在双孢蘑菇的最终生产上出现较大区别。

此外,有研究表明,在堆肥基质上的其他菌株也会影响双孢蘑菇的生长。例如 Wiegant 等<sup>[66]</sup>研究指出,双孢蘑菇堆肥中嗜热真菌——嗜热镰刀菌(*Scytalidium thermophilum*)产生的二氧化碳对双孢蘑菇菌丝体的生长具有促进作用。Coello-Castillo 等<sup>[69]</sup>的研究与此相似,在 *Scytalidium thermophilum* 定植的基质上,双孢蘑菇生长更快,并且其生物效率大大提高。Straatsma 等<sup>[10]</sup>同样报道堆肥基质中的嗜热真菌对双孢蘑菇菌丝体的生长必不可少。

## 4 结语

该研究阐述了双孢蘑菇工厂化生产中的秸秆鸡粪发酵技术,发酵过程中微生物和酶活性的变化,以及影响双孢蘑菇生长的主要因素。因发酵原料、配比及堆肥环境不同,各工厂的发酵过程存在一定差异。但如何缩短各发酵阶段时间、减少发酵过程中杂菌数以及提高双孢蘑菇产量仍是今后主要的研究工作之一。

## 参考文献

[1] FOULONGNE-ORIOU M, SPATARO C, SAVOIE J M. Novel microsatellite markers suitable for genetic studies in the white button mushroom *Agaricus bisporus* [J]. Applied microbiology biotechnology, 2009, 84(6): 1125-1135.

[2] WANG L, MAO J G, ZHAO H J, et al. Comparison of characterization and microbial communities in rice straw-and wheat straw-based compost for *Agaricus bisporus* production [J]. Journal of industrial microbiology & bio-

technology, 2016, 43(9): 1249-1260.

[3] COLMENARES-CRUZ S, SÁNCHEZ J E, VALLE-MORA J. *Agaricus bisporus* production on substrates pasteurized by self-heating [J]. AMB Express, 2017, 7(1): 135-144.

[4] JURAK E, PUNT A M, ARTS W, et al. Fate of carbohydrates and lignin during composting and mycelium growth of *Agaricus bisporus* on wheat straw based compost [J]. PLoS One, 2015, 10(10): 1-16.

[5] ROYSE D J, BAARS J J P, TAN Q. Current overview of mushroom production in the world [M]// ZIED D C, PARDO-GIMÉNEZ A. Edible and medicinal mushrooms: Technology and applications. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd., 2017: 5-13.

[6] PONTES M V A, PATYSHAKULIYEVA A, POST H, et al. The physiology of *Agaricus bisporus* in semi-commercial compost cultivation appears to be highly conserved among unrelated isolates [J]. Fungal genetics biology, 2018, 112: 12-20.

[7] VOS A M, HEIJBOER A, BOSCHKER H T S, et al. Microbial biomass in compost during colonization of *Agaricus bisporus* [J]. AMB Express, 2017, 7(1): 12-19.

[8] JURAK E, KABEL M A, GRUPPEN H. Carbohydrate composition of compost during composting and mycelium growth of *Agaricus bisporus* [J]. Carbohydrate polymers, 2014, 101: 281-288.

[9] NOBLE R, HOBBS P J, MEAD A, et al. Influence of straw types and nitrogen sources on mushroom composting emissions and compost productivity [J]. Journal of industrial microbiology & biotechnology, 2002, 29(3): 99-110.

[10] STRAATSMA G, GERRITS J P G, THISSEN J T N M, et al. Adjustment of the composting process for mushroom cultivation based on initial substrate composition [J]. Bioresource technology, 2000, 72(1): 67-74.

[11] ZHANG H L, WEI J K, WANG Q H, et al. Lignocellulose utilization and bacterial communities of millet straw based mushroom (*Agaricus bisporus*) production [J]. Scientific reports, 2019, 9(1): 1151-1164.

[12] SONG T T, CAI W M, JIN Q L, et al. Comparison of microbial communities and histological changes in Phase I rice straw-based *Agaricus bisporus* compost prepared using two composting methods [J]. Scientia horticulturae, 2014, 174: 96-104.

[13] MILLER F C, MACAULEY B J. Substrate usage and odours in mushroom composting [J]. Australian journal of experimental agriculture, 1989, 29(1): 119-124.

[14] DE ANDRADE M C N, DE JESUS J P F, VIEIRA F R, et al. Dynamics of the chemical composition and productivity of composts for the cultivation of *Agaricus bisporus* strains [J]. Brazilian journal of microbiology, 2013, 44(4): 1139-1146.

[15] LYONS G A, SHARMA H S S, KILPATRICK M, et al. Monitoring of changes in substrate characteristics during mushroom compost production [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2006, 54(13): 4658-4667.

[16] HIYAMA K, STONE B A, MACAULEY B J. Compositional changes in compost during composting and growth of *Agaricus bisporus* [J]. Applied and environmental microbiology, 1994, 60(5): 1538-1546.

[17] KABEL M A, JURAK E, MÄKELÄ M R, et al. Occurrence and function of enzymes for lignocellulose degradation in commercial *Agaricus bisporus* cultivation [J]. Applied microbiology and biotechnology, 2017, 101(11): 4363-4369.

[18] 黄建春, 孙占刚, 陈辉, 等. 荷兰先进双孢蘑菇培养料堆制发酵技术 [J]. 食用菌, 2015, 37(2): 1-3.

[19] 侯晓伟, 王晓巍, 陈年来, 等. 双孢蘑菇培养料发酵微生物变化对其理化性质的影响研究 [J]. 中国农学通报, 2014, 30(25): 111-115.

[20] 万鲁长, 谷炜, 谷庆葵. 双孢蘑菇标准化合成堆肥栽培及发酵技术 [J]. 中国农村科技, 2004(11): 22-23.

[21] 蔡开地, 黄金华, 黄梅椰. 蘑菇三次发酵高效优质栽培技术 [J]. 中国食用菌, 2008, 27(1): 29, 33.

[22] 郭月清. 双孢蘑菇栽培管理技术 [J]. 中国农技推广, 2015, 31(6): 24-26.

[23] 夏道广, 刘萍英, 李凤玉, 等. 双孢蘑菇隧道发酵高效栽培技术 [J]. 农技服务, 2014, 31(12): 16-18.

[24] 杨国良, 何晓兵. 蘑菇堆肥高压发酵隧道技术的应用 [J]. 浙江食用菌, 2010, 18(2): 17-19.

[25] SHARMA H S, KILPATRICK M. Mushroom (*Agaricus bisporus*) compost quality factors for predicting potential yield of fruiting bodies [J]. Canadian journal of microbiology, 2000, 46(6): 515-519.

[26] VIEIRA F R, PECCHIA J A. An exploration into the bacterial community under different pasteurization conditions during substrate preparation

- (composting-phase II) for *Agaricus bisporus* cultivation[J]. *Microbial ecology*, 2018, 75(2): 318–330.
- [27] 张淑杰, 耿莲美, 魏润黔, 等. 荷兰蘑菇栽培技术[J]. *食用菌*, 1983, 5(2): 20–21.
- [28] 康平, 何林. 双孢蘑菇堆肥发酵工艺[J]. *农村科技*, 2010(5): 74–75.
- [29] 赵彦岗. 荷兰双孢蘑菇标准化种植及启示[C]//2013全国农业标准化研讨会论文集. 北京: 中国标准化杂志社, 2013: 131–134.
- [30] 邓德江, 魏金康. 荷兰工厂化栽培双孢蘑菇技术[J]. *北京农业*, 2009(27): 25–27.
- [31] VIEIRA F R, PECCHIA J A, SEGATO F, et al. Exploring oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) substrate preparation by varying phase I composting time; Changes in bacterial communities and physicochemical composition of biomass impacting mushroom yields[J]. *Journal of applied microbiology*, 2019, 126(3): 931–944.
- [32] LYONS G A, MCCALL R D, SHARMA H S. Physical degradation of wheat straw by the in-vessel and windrow methods of mushroom compost production[J]. *Canadian journal of microbiology*, 2000, 46(9): 817–825.
- [33] STRAATSMA G, GERRITS J P G, THISSEN J T N M, et al. Adjustment of the composting process for mushroom cultivation based on initial substrate composition[J]. *Bioresource technology*, 2000, 72(1): 67–74.
- [34] 华尔山. 双孢蘑菇培养料二次发酵新技术[J]. *中国食用菌*, 2005, 24(1): 30–31.
- [35] 杨国良, 赵钢勇, 张爱民, 等. 新型蘑菇堆肥隧道发酵的特点及应用效果[J]. *食用菌*, 2008, 30(5): 23–24.
- [36] VOS A M, JURAK E, PELKMANS J F, et al. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as a candidate bottleneck for MnP activity during cultivation of *Agaricus bisporus* in compost[J]. *AMB Express*, 2017, 7(1): 124–133.
- [37] 隗加香, 肖婷婷, 王倩, 等. 双孢蘑菇发酵培养料细菌菌群结构及其功能预测[J]. *食用菌学报*, 2019, 26(4): 50–56.
- [38] 刘艳华. 双孢蘑菇种植和栽培新技术[J]. *现代农业*, 2012(7): 19.
- [39] MCGEE C F. Microbial ecology of the *Agaricus bisporus* mushroom cropping process[J]. *Applied microbiology biotechnology*, 2018, 102(3): 1075–1083.
- [40] 杨国良, 刘明山. 蘑菇堆肥隧道发酵新技术应用简报[J]. *食用菌*, 2012, 34(6): 33–34.
- [41] ADAMS J D W, FROSTICK L E. Investigating microbial activities in compost using mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation as an experimental system[J]. *Bioresource technology*, 2008, 99(5): 1097–1102.
- [42] LÓOPEZ-GONZÁLEZ J A, SUÁREZ-ESTRELLA F, VARGAS-GARCÍA M C, et al. Dynamics of bacterial microbiota during lignocellulosic waste composting; Studies upon its structure, functionality and biodiversity[J]. *Bioresource technology*, 2015, 175: 406–416.
- [43] LIU D Y, ZHANG R F, WU H S, et al. Changes in biochemical and microbiological parameters during the period of rapid composting of dairy manure with rice chaff[J]. *Bioresource technology*, 2011, 102(19): 9040–9049.
- [44] KARADAG D, ÖZKAYA B, ÖLMEZ E, et al. Profiling of bacterial community in a full-scale aerobic composting plant[J]. *International biodegradation & biodegradation*, 2013, 77: 85–90.
- [45] PARTANEN P, HULTMAN J, PAULIN L, et al. Bacterial diversity at different stages of the composting process[J]. *BMC Microbiology*, 2010, 10: 94–105.
- [46] LI Q, WANG X C, ZHANG H H, et al. Characteristics of nitrogen transformation and microbial community in an aerobic composting reactor under two typical temperatures[J]. *Bioresource technology*, 2013, 137: 270–277.
- [47] REN G M, XU X H, QU J J, et al. Evaluation of microbial population dynamics in the co-composting of cow manure and rice straw using high throughput sequencing analysis[J]. *World journal of microbiology biotechnology*, 2016, 32(6): 101–112.
- [48] 李云福, 李正风, 董高峰, 等. 双孢蘑菇培养料发酵过程中细菌群落动态变化[J]. *菌物研究*, 2019, 17(2): 94–102.
- [49] 王鸿磊, 王红艳, 宋俊芬, 等. 双孢蘑菇培养料工厂化发酵过程中微生物及物质变化研究[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(1): 94–96.
- [50] 李敏. 双孢蘑菇培养料发酵过程中物质变化及微生物群落结构研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [51] SAVOIE J M. Changes in enzyme activities during early growth of the edible mushroom, *Agaricus bisporus*, in compost[J]. *Mycological research*, 1998, 102(9): 1113–1118.
- [52] 桑羽希, 张昊琳, 高晓静, 等. 草菇渣栽培双孢蘑菇过程中的理化性状和木质纤维素分解利用研究[J]. *中国农学通报*, 2019, 35(8): 152–157.
- [53] 蔡盼盼, 张文强, 张昊琳, 等. 双孢蘑菇培养料理化指标及酶活与其产量相关的多重分析[J]. *农业工程学报*, 2019, 35(7): 231–237.
- [54] TIQUIA S M. Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting[J]. *Journal of applied microbiology*, 2002, 92(4): 764–775.
- [55] VARGAS-GARCÍA M C, SUÁREZ-ESTRELLA F, LÓPEZ M J, et al. Microbial population dynamics and enzyme activities in composting processes with different starting materials[J]. *Waste management*, 2010, 30(5): 771–778.
- [56] CASTALDI P, GARAU G, MELIS P. Maturity assessment of compost from municipal solid waste through the study of enzyme activities and water-soluble fractions[J]. *Waste management*, 2008, 28(3): 534–540.
- [57] 姚琴. 双孢蘑菇培养料配方及发酵过程中物质变化规律研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [58] 秦改娟, 王晓, 陈青君, 等. 不同配方培养料生产双孢蘑菇过程中主要木质纤维素降解酶及物料组分的变化[J]. *应用与环境生物学报*, 2017, 23(6): 1035–1041.
- [59] DE ANDRADE M C N, ZIED D C, DE ALMEIDA MINHONI M T, et al. Yield of four *Agaricus bisporus* strains in three compost formulations and chemical composition analyses of the mushrooms[J]. *Brazilian journal of microbiology*, 2008, 39(3): 593–598.
- [60] 孙亚芳. 不同基质栽培双孢蘑菇研究[J]. *农村经济与科技*, 2018, 29(4): 36.
- [61] DIAMANTOPOULOU P, PHILIPPOUSSIS A. Production attributes of *Agaricus bisporus* white and off-white strains and the effect of calcium chloride irrigation on productivity and quality[J]. *Scientia horticulturae*, 2001, 91(3/4): 379–391.
- [62] 李晓博, 任海霞, 刘孝利, 等. 不同基质栽培双孢蘑菇分析[J]. *现代农业研究*, 2018(11): 32–33, 50.
- [63] 王芳, 张玉萍, 鹿有贵, 等. 不同基质栽培双孢蘑菇研究[J]. *山西农业科学*, 2016, 44(8): 1135–1137.
- [64] RAMÍREZ L, MUEZ V, ALFONSO M, et al. Use of molecular markers to differentiate between commercial strains of the button mushroom *Agaricus bisporus*[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 198(1): 45–48.
- [65] SOUZA T P, MARQUES S C, DA SILVEIRA E SANTOS D M, et al. Analysis of thermophilic fungal populations during phase II of composting for the cultivation of *Agaricus subrufescens*[J]. *World journal microbiology biotechnology*, 2014, 30(9): 2419–2425.
- [66] WIEGANT W M, WERY J, BUITENHUIS E T, et al. Growth-promoting effect of thermophilic fungi on the mycelium of the edible mushroom *Agaricus bisporus*[J]. *Applied and environmental microbiology*, 1992, 58(8): 2654–2659.
- [67] KERTESZ M A, THAI M. Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms[J]. *Applied microbiology biotechnology*, 2018, 102(4): 1639–1650.
- [68] ARCE-CERVANTES O, SAUCEDO-GARCÍA M, LEAL LARA H, et al. Alternative supplements for *Agaricus bisporus* production and the response on lignocellulolytic enzymes[J]. *Scientia horticulturae*, 2015, 192: 375–380.
- [69] COELLO-CASTILLO M M, SÁNCHEZ J E, ROYSE D J. Production of *Agaricus bisporus* on substrates pre-colonized by *Scytalidium thermophilum* and supplemented at casing with protein-rich supplements[J]. *Bioresource technology*, 2009, 100(19): 4488–4492.

(上接第 15 页)

- [61] WU W D, LI J H, LAN T, et al. Unraveling sorption of lead in aqueous solutions by chemically modified biochar derived from coconut fiber: A microscopic and spectroscopic investigation[J]. *Science of the total environment*, 2017, 576: 766–774.
- [62] DENG J Q, LIU Y G, LIU S B, et al. Competitive adsorption of Pb(II), Cd(II) and Cu(II) onto chitosan-pyromellitic dianhydride modified biochar[J]. *Journal of colloid and interface science*, 2017, 506: 355–364.
- [63] 王立仙. 铜在土壤中的淋溶迁移特征及其生物效应研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2008.
- [64] PENG H B, GAO P, CHU G, et al. Enhanced adsorption of Cu(II) and Cd(II) by phosphoric acid-modified biochars[J]. *Environmental pollution*, 2017, 229: 846–853.
- [65] 杨广西. 生物炭的化学改性及其对铜的吸附研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2014.