

基于落叶资源化利用的景观生态砖开发研究

寇一鸣, 周苾纯, 陆沁凝, 罗永婷, 张 葳, 陈 军* (上海师范大学生命科学学院, 上海 200234)

摘要 探究落叶资源的生态开发利用。通过筛选高效降解微生物分解释放落叶中植物生长养分, 再经模具压制加工成既能生长景观植物, 又可拼接布景的落叶生态砖。结果表明: 筛选的 3^株落叶降解菌株能丰富降解基质中微生物种群数量, 比对照组高出 6.4 倍, 微生物多样性指数 SW 比对照提高了 0.12; 落叶降解基质中酶活力指标也明显增加。种植试验表明: 经降解过的落叶基质营养成分组成更适合草皮等景观植物的生长。压制成的落叶生态砖成型规则, 草籽定植稳固, 生态砖拼接形式多样, 砖体透气保肥效果适度, 养护期草籽萌发率高, 生长速度快, 具有较好的景观生态效果。研究可为大量的落叶资源寻找一条环境友好的处理途径, 具有较好的经济价值和生态环保意义。

关键词 落叶; 微生物降解; 资源化利用; 景观生态砖

中图分类号 S 731.2 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)20-0225-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.20.059



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on the Development of Landscape Ecological Brick Based on the Utilization of Defoliation as Resources

KOU Yi-ming, ZHOU Yi-chun, LU Qin-ning et al (College of Life Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234)

Abstract The ecological development and utilization of deciduous resources is researched. By screening high-efficient degradation microorganisms, releasing the nutrients of the plants in the leaves, and then using the mold to suppress the degradation of the leaves, the leaves can be processed into both landscape plants and mosaic ecological bricks. The results showed that the number of microorganisms in the degradation matrix was increased by 6.4 times, and the microbial diversity index (SW) was also increased by 0.12 compared with the control group. The planting experiment shows that the nutrient composition of the defoliated substrate is more suitable for the growth of landscape plants such as turf. The pressed defoliated ecological brick has regular shaping, stable grass seed planting, various splicing forms of ecological brick, moderate permeability and fertilizer retention effect of brick body, high germination rate and fast growth rate of grass seed during maintenance period, and good landscape ecological effect. The study can find an environmentally friendly way to deal with a large number of deciduous resources, which has better economic value and ecological and environmental protection significance.

Key words Defoliation; Microbial degradation; Resource utilization; Landscape ecological brick

近年来城市或景区树木绿化的规模超速发展, 每年季节性产生的大量落叶在自然环境中降解周期长, 还会产生不良的气味和腐烂物质, 影响城市的环境质量^[1]。清除和处理落叶污染已经成为环卫工人一项繁重的工作, 也是环境保护行业中十分棘手的问题之一^[1-2]。随着环保问题越来越受到人们的关注, “绿水青山就是金山银山”理念更加深入人心, 落实“创新、协调、绿色、开放、共享”的发展理念使人们更加爱惜身边的环境^[3]。自然界每年会产生数量极其庞大的落叶资源^[4,5], 而落叶中可利用的有机物质含量高, 其中主要成分是纤维素、多糖和蛋白质, 此外, 还含有丰富的无机盐、维生素和多种植物激素^[6-8]。目前落叶资源处理的主要方法有堆肥法、焚烧法和填埋法^[9-11]。虽然能够清除落叶污染, 但存在效益低、处理能力有限和再生利用率差等现实问题^[12-13]。该课题充分利用落叶中对植物生长有益成分, 经过微生物的分解和转化作用, 释放其中的养分, 再通过调节降解基质中营养物质配比, 与凝结剂混合后压制加工成预先植入过景观植物的种子(或孢子)的生态砖块。该砖块可拼接、能布景、会生长, 可以布置在林间、绿地、墙体或路旁, 在适宜的养护条件下形成具有美化绿化功能的装饰材料, 研究开发的产品可为落叶资源的再利用、城市和景区环境质量的改善、

园林绿化材料新资源的增加提供新途径。

1 材料与方法

1.1 落叶、微生物分离样品及预植草籽

1.1.1 落叶收集。春季校园内收集落叶量较大的干枯香樟落叶。

1.1.2 降解微生物分离样品。多点采集树林中枯枝败叶残存环境中的表层土壤, 每个采样点采集 50 g 装入无菌小塑料袋, 通过等量缩分将样品缩减到 10 g 备用。

1.1.3 草籽。美国四季青狗牙根黑麦草(*Lolium perenne* L.)草籽, 矮生草坪, 耐阴耐寒, 四季常绿品种^[14]。

1.2 培养基

1.2.1 微生物增殖培养基。Na₂HPO₄ 6 g/L, KH₂PO₄ 3 g/L, NaCl 0.5 g/L, NH₄Cl 1 g/L, 酵母膏 0.2 g/L, MgSO₄ 0.24 g/L, CaCl₂ 0.011 g/L, 添加经破碎机粉碎落叶基质 20 g/L 和 100 mg/mL 氨苄青霉素 100 μL/L。

1.2.2 微生物分离纯化培养基。落叶粉碎基质 10 g/L, Na₂HPO₄ 6 g/L, KH₂PO₄ 3 g/L, NaCl 0.5 g/L, NH₄Cl 1 g/L, FeSO₄ 0.025 g/L, 酵母膏 0.2 g/L, MgSO₄ 0.24 g/L, CaCl₂ 0.011 g/L, 氨苄青霉素 100 μL/L, 琼脂 20 g/L, pH 5.8~6.2, 0.1 MPa, 灭菌 20 min。

1.2.3 保存培养基。PDA; 商品培养基, 上海疾病控制中心生产。

1.3 试验器材及设备 刮铲、定植杯和制砖模具。涡旋振荡器、超净工作台、高压灭菌锅、振荡培养箱、恒温恒湿光照培养箱和电导率。

基金项目 教育部人文社会科学一般项目(18YJC880128); 上海市大学生创新活动计划项目(202010270155)。

作者简介 寇一鸣(1994—), 女, 甘肃天水人, 硕士研究生, 研究方向: 微生物分子生物学。* 通信作者, 副教授, 博士, 从事微生物分子生物学研究。

收稿日期 2020-03-11; **修回日期** 2020-04-22

1.4 增殖培养 称取 2 g 土样加入装有 50 mL 增殖培养基的 250 mL 三角瓶中,涡旋振荡器上振荡 5 min,设置 3 组平行。混匀的液体置于 30 ℃,180 r/min 振荡培养箱中摇瓶培养 5 d。

1.5 落叶降解微生物分离

1.5.1 增殖液梯度稀释。在超净工作台中取增殖培养液 10 mL 加入装有 90 mL 无菌水的 250 mL 三角瓶中,静置 5 min 后用涡旋振荡器上振荡 5 min,制成 10^{-1} 稀释菌液。用无菌吸管吸取 1 mL 10^{-1} 稀释菌液加入 9 mL 无菌水试管中,涡旋振荡器 1 min 制成 10^{-2} 稀释菌液,再依次用无菌吸管吸取 1 mL 稀释菌液加入 9 mL 无菌水试管中梯度稀释成 10^{-3} 倍、 10^{-4} 倍、 10^{-5} 倍稀释菌液。

1.5.2 平板涂布。分别取 0.1 mL 的 10^{-4} 倍、 10^{-5} 倍稀释菌液于分离培养基平板上,用无菌涂布棒分别涂布均匀,每一稀释度重复 5 个平行。

1.5.3 培养。将涂布好的平板放入 30 ℃ 微生物恒温培养箱中倒置培养 48 h 后,观察培养结果,统计总菌数、菌落种类。

1.5.4 菌株鉴别及纯化。挑取生长快速的典型菌落,在保存培养基平板上划线纯化至单一菌落,显微镜观察菌体形态。纯化后的菌落斜面菌种保藏作为后续试验的备用菌种。

1.6 落叶的微生物降解试验

1.6.1 降解菌种的制备。将分离得到的落叶降解菌株斜面用 5 mL 无菌生理盐水浸润,接种环搅拌斜面表面的菌苔将菌苔全部洗下,用无菌吸管转入到 50 mL 无菌三角瓶中,涡旋振荡器上振荡 5 min 成菌悬液,取 5 mL 菌悬液加入到 50 mL 增殖培养液中 160 r/min,30 ℃ 培养 48 h,作为强化落叶降解的发酵菌种。

1.6.2 落叶降解试验。将收集的香樟落叶加水浸润 24 h 后按质量比接入 1:100 (m/m) 的落叶降解菌种制备液拌合均匀,装入 $50\times30\times30\text{ cm}^3$ 的方形塑料篮中用 8 层纱布覆盖篮口,30 ℃ 培养 5~6 d 强化落叶降解。测定其中的微生物数量、微生物多样性指数和酶活力。其中对照组不添加菌液。

1.7 景观生态砖的制作及养护

1.7.1 草籽在降解落叶基质中的萌发及生长。将发酵后的香樟落叶用粉碎机破碎成粗粉状,在定植杯中 ($\Phi\ 60\text{ mm}\times80\text{ mm}$) 装满压实,每杯均匀植入草籽 5 粒,设置 5 组平行。喷洒适量清水,增湿光照培养箱内 22 ℃,培养 10 d,统计出苗率和平均生长速度。

1.7.2 生态砖的压制。根据预植的植物种类对落叶降解基质作适量的植物营养物质调节,再加入质量比为 10% (m/m) 的 2% 的羧甲基纤维素溶液作为黏合剂拌匀,调节混合基质中总含水量在 35%~40%。

将搅和的复配的落叶降解基质填充到特制的制砖模具 (图 1) 中压紧压实,磨平,并在预制的落叶砖的上表层均匀撒入草籽,预植的草籽量为 $2\sim3\text{ 粒}/\text{cm}^2$,压平成型后制成生态砖雏形。砖块放置在室内常温风干,约 5~7 d 自然风干,即已经制成生态砖。

1.7.3 生态砖透水保肥性能测定。对相同制作条件下制成



图 1 生态砖压制模具

Fig.1 Ecological brick pressing mold

的生态砖,切取 $10\times10\text{ cm}^2$ 的方块,四周用宽带透明胶带束缚,上部形成凹形水槽,加入清水保持水深 5 cm,并收集透过砖块的液体,测定单位时间单位面积内流出液体的体积 [$\text{mL}/(\text{cm}^2\cdot\text{min})$] 和液体的电导率 (mS/cm)。

1.7.4 生态砖的使用及养护管理。生态砖在使用前先将砖块浸入清水中吸水 10 min,再在室外草坪、墙体或路边按照设计的图案摆放。用喷水壶喷水补湿,考察草籽开始萌发和生长情况。

1.8 检测方法

1.8.1 菌体浓度测定^[15]。活菌计数法测定样品中和种类微生物数量。

1.8.2 降解落叶基质的微生物多样性指数检测^[16]。微生物数量分析采用数字液体稀释仪和全自动微生物平皿螺旋加样系统操作,其中细菌检测采用营养琼脂培养基平板,放线菌检测采用高氏一号培养基平板,真菌检测采用马丁氏培养基平板。

落叶降解基质微生物类群多样性指数采用 Shannon-Wiener (SW) 多样性指数表示。公式如下:

$$SW = -\sum_{i=1}^n P_i (\ln P_i)$$

式中, $P_i = N_i/N$; N 为菌落总数 (cfu/mL); N_i 为第 i 个种的菌落数 (cfu/mL)。

1.8.3 降解落叶中微生物总 DNA 的提取^[17]。取 3.0~4.0 g 降解落叶样品交上海美吉生物医药科技有限公司进行样品基因组分析,测定经过降解菌强化作用后落叶样品中微生物群落组成分析。

2 结果与分析

2.1 筛选微生物强化降解落叶基质的肥力指标分析 通过对采集样品中的微生物进行富集培养,并采用落叶为微生物降解基质筛选出能快速利用落叶基质的微生物菌株,共分离出具有生长优势的落叶降解微生物菌株 6 株。对落叶进行固态发酵试验,接种不同的分离菌种强化落叶发酵,测定固态发酵基质的微生物多样性指数和酶活力 (磷酸酶、过氧化氢酶、蔗糖酶和纤维素酶等)。落叶降解样中微生物多样性指数统计见表 1,酶活力指标测定见表 2。

表 1 落叶降解样中微生物多样性指数统计

Table 1 Statistics of microbial diversity index in deciduous samples

菌种 编号 Strain No.	细菌总数 Total number of bacteria CFU/g	放线菌总数 Total actino- mycetes CFU/g	真菌总数 Total fungi CFU/g	微生物总数 Total number of microorganisms CFU/g	微生物 多样性 指数 SW
CK	3.2E+05	3.0E+04	1.2E+05	4.7E+05	0.786
1 [#]	8.7E+05	3.1E+05	1.5E+06	2.7E+06	0.944
2 [#]	1.3E+06	5.4E+05	7.8E+05	2.6E+06	1.033
3 [#]	4.5E+05	8.5E+05	2.2E+06	3.5E+06	0.906
4 [#]	7.5E+05	5.3E+05	8.6E+05	2.1E+06	1.079
5 [#]	3.1E+05	4.8E+05	1.8E+06	2.6E+06	0.812
6 [#]	3.8E+05	1.8E+05	1.1E+06	1.7E+06	0.841

从表 1 检测结果分析,强化降解微生物后的落叶基质中微生物数量明显增加,微生物多样性指数也发生较大的变化,说明强化降解性能更好的微生物能提高落叶基质中微生物的活跃程度,更加有利于基质的分解。其中微生物数量增加最多的是 3[#]菌株,数量达到 3.5×10⁶ CFU/g,比对照组高出 6.4 倍。多样性指数增加最多的是 4[#]菌株,SW 为 1.079,比对照组高出 0.284。与之相对应的基质肥力指标显示 3[#]菌株的脲酶、蔗糖酶、纤维素酶和过氧化氢酶的活力均高于对照和其他菌株(表 2)。综合多方面结果,试验最终选择 3[#]菌为落

叶降解的强化菌种。

表 2 落叶降解样酶活力指标测定

Table 2 Determination of activity indexes of deciduous degradation enzymes

菌种编号 Strain No.	脲酶活力 Urease activity mg/(g·h)	蔗糖酶活力 Sucrase activity mg/(g·h)	纤维素酶活力 Cellulase activity mg/(g·h)	过氧化氢酶活力 Catalase activity mL/(g·h)
CK	0.084	1.703	0.094	137.228
1 [#]	0.484	0.510	0.079	211.613
2 [#]	0.561	0.944	0.068	227.003
3 [#]	0.616	1.681	0.141	232.133
4 [#]	0.445	1.701	0.056	139.280
5 [#]	0.587	1.974	0.028	137.484
6 [#]	0.477	0.183	0.023	185.963

2.2 落叶降解后微生物群落组成分析 利用 3[#]菌强化落叶降解后,基质中的微生物基因组测序分析显示其中的菌系组成中属于假球壳目的菌生格孢菌(*Pleospora episphaeris*)数量占比 65.02%,其次是发菌科(*Trichocomaceae*)翅孢壳属微生物,占比 11.5%,再次是厚顶盘菌目(*Stictidaceae*)点盘菌科(*Agyriella nigra*)的黑色无座盘孢菌,占比 10%。种类微生物数量占比情况如图 2 所示。

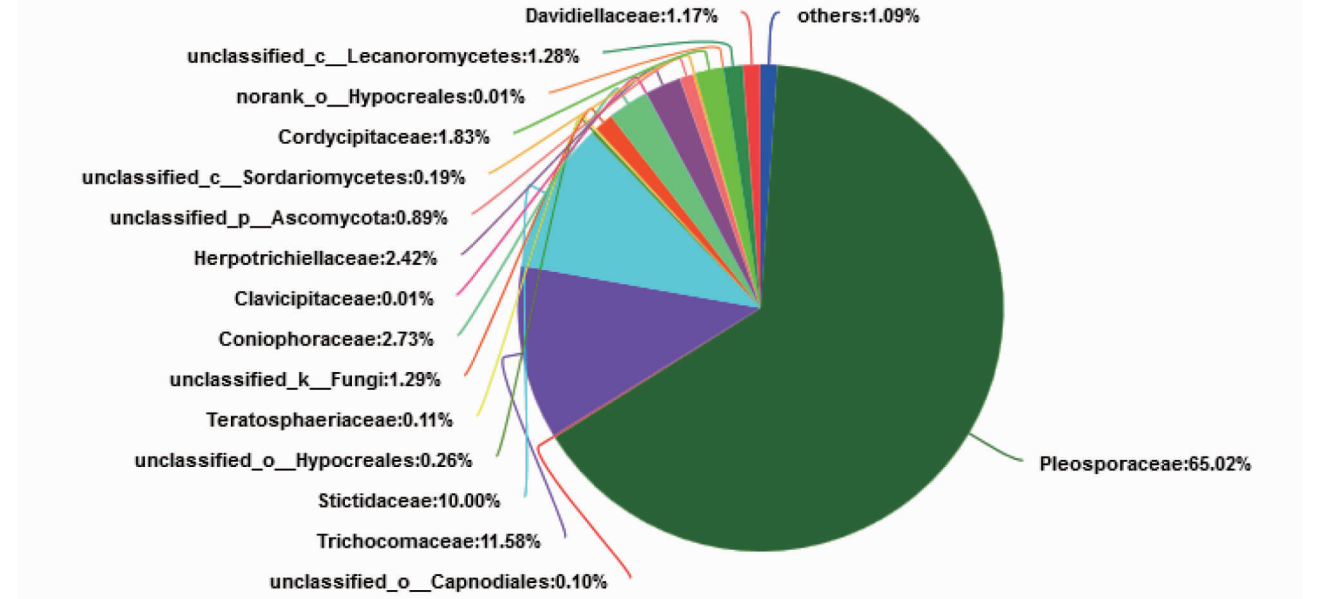


图 2 降解落叶中种类微生物数量占比

Fig.2 Proportion of the number of microorganisms in degraded leaves

2.3 降解落叶基质的草籽萌发率及生长速度 利用 3[#]菌株降解后的落叶基质在定植杯中测试草籽的萌发和草苗的生长情况,统计结果如图 3、4 所示。

由图 3、4 可以发现落叶经 3[#]菌株发酵降解后对草籽的萌发产生较好的影响,平均萌发率为 93%,比未经降解的落叶稍高 5%;而对草苗生长速度的影响更为明显,5 d、10 d 和 15 d 的生长速度分别提高了 42.9%、91.2% 和 33.3%。说明降解落叶在草苗生长初期提供营养的速度更快,草苗的前期生长速度显著高于未降解落叶基质。证实了落叶微生物降解更适合植物的种植。

2.4 生态砖透水保肥效果性能 对制作的生态砖喷淋清水并收集透过砖块的液体,测定单位时间内流出液体的体积和液体的电导率,结果如表 3 所示。

检测结果表明,相同的制砖条件下未经降解的落叶生态砖透水率最高,0.54 mL/(cm²·min),而经 3[#]菌株降解落叶制成的生态砖只有 0.25 mL/(cm²·min),说明透水性适中,有利于形成砖块的较好的涵水能力,而电导率测定显示,3[#]菌株降解落叶制成的生态砖透出液体的的数值为 1.025 mS/cm,低于另两种菌株处理的落叶,反映出该样品还具有较好的保肥性能,对照组未降解落叶生态砖的电导率数值较小的原因

应该是落叶分解不够,其中营养物质的释放不多。

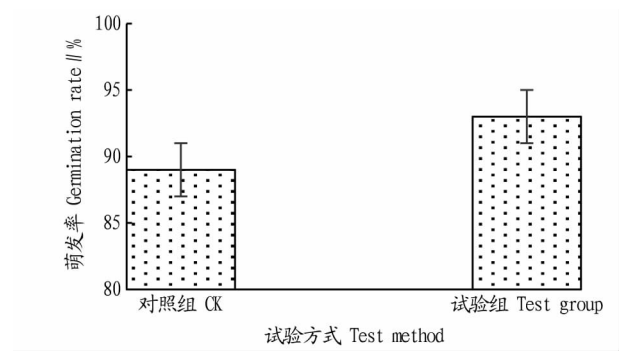


图3 降解落叶基质对草籽的萌发影响

Fig.3 The effect of degrading deciduous substrate on the germination of grass seeds

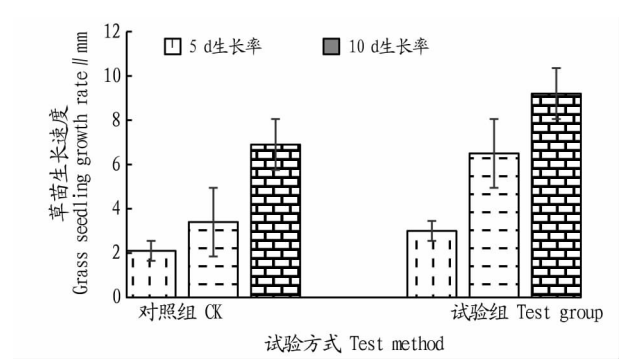


图4 降解落叶基质对草籽的生长速度影响

Fig.4 Degradation of deciduous substrate on the growth rate of grass seeds

表3 生态砖透水保肥性能
Table 3 Performance of permeable fertilizer retention of ecological bricks

砖型 Brick type	透水率 Permeability mL/(cm ² ·min)	电导率 Conductivity mS/cm
未降解落叶生态砖 Undegraded deciduous ecological brick	0.54	0.954
1 [#] 菌株降解落叶生态砖 1 [#] strain degrades deciduous ecological bricks	0.32	1.242
3 [#] 菌株降解落叶生态砖 3 [#] strain degrades deciduous ecological bricks	0.25	1.025
4 [#] 菌株降解落叶生态砖 4 [#] strain degrades deciduous ecological bricks	0.29	1.354

2.5 黑麦草生态砖的基本养护条件确定 制成的生态砖养护的基本条件如下:在气温 20~30 ℃ 的季节,景观生态砖拼接前浸水 10 min,按照设计的图案拼接成景,每天傍晚喷洒清水使砖块表面湿润,3~5 d 草籽发芽形成小苗,5~10 d 小

苗覆盖砖表面,当草苗根系形成扎入基质内部后 2~3 d 适当喷水,直到砖块自然分解。

3 结论与讨论

落叶资源十分庞大,落叶在自然环境中降解周期长,影响环境质量。经过微生物分解和转化作用落叶释放对植物生长有益成分,再压制加工成景观落叶生态砖块,将资源转化科学合理,污染物转变自然和谐^[18-19]。设计加工可为废弃的落叶资源再利用,改善城市 and 景区的环境质量,丰富园林绿化材料新资源和新途径。

参考文献

[1] 王凤琳,夏博梦雪,杨郁鑫,等.基于离散模型的落叶资源利用方案评价[J].工业安全与环保,2016,42(6):91-94.

[2] 任继勤,李梦柔,马艺丹.基于 PEST 分析的京郊落叶处理方式研究[J].天津农业科学,2018,24(9):77-80.

[3] 严陈玲.德国柏林市落叶的收集及资源化再利用措施[J].再生资源与循环经济,2019,12(12):39-41.

[4] 韩敏,董希斌,管惠文,等.大兴安岭天然落叶松林不同演替阶段土壤性质对生态功能的影响[J].东北林业大学学报,2019,47(12):50-54,89.

[5] ZHANG L,SUN X Y.Changes in physical,chemical,and microbiological properties during the two-stage co-composting of green waste with spent mushroom compost and biochar[J].Bioresource technology,2014,171:274-284.

[6] DONATH T W,ECKSTEIN R L.Effects of bryophytes and grass litter on seedling emergence vary by vertical seed position and seed size[J].Plant ecology,2010,207(2):257-268.

[7] 陈广银,王德汉,项钱彬.蘑菇渣与落叶联合堆肥过程中养分变化的研究[J].农业环境科学学报,2006,25(5):1347-1353.

[8] 梁晶,吕子文,方海兰.园林绿色废弃物堆肥处理的国外现状与我国的出路[J].中国园林,2009,25(4):1-6.

[9] 李艳霞,王敏健,王菊思.有机固体废物堆肥的腐熟度参数及指标[J].环境科学,1999,20(2):98-103.

[10] 王元贞,潘廷国,柯玉琴.微生物与植物共生关系的研究及其利用[J].中国生态农业学报,2003,11(3):95-98.

[11] WASHITANI I,NISHIYAMA S.Effects of seed size and seedling emergence time on the fitness components of *Ambrosia trifida* and *A.artemisi-aeifolia* var.*elator* in competition with grass perennials[J].Plant species biology,1992,7(1):11-19.

[12] 李有志,刘春华,郭艺璇.共生复合微生物在有机废弃物处理利用中的关键技术研究与应用[J].中国科技成果,2015(16):42-45.

[13] BILLAH M,BANO A.Role of plant growth promoting rhizobacteria in modulating the efficiency of poultry litter composting with rock phosphate and its effect on growth and yield of wheat[J].Waste management & research,2015,33(1):63-72.

[14] 陈蕴,罗富成.云南省亚热带野生草坪草栽培试验及坪用性状评价[J].草业与畜牧,2011(11):23-25.

[15] SCHUTTE B J,REGNIER E E,HARRISON S K.The association between seed size and seed longevity among maternal families in *Ambrosia trifida* L.populations[J].Seed science research,2008,18(4):201-211.

[16] 陈春岚,苏辉兰,黄广上,等.腐熟堆肥与落叶堆中纤维素降解菌的筛选及其环境适应性分析[J].西南农业学报,2016,29(6):1366-1370.

[17] 蒋武燕,赵晓光,宋世杰.废弃秸秆制作生态修复绿化砖工艺及可行性分析[J].中国资源综合利用,2014,32(8):34-37.

[18] 冯蕾,胡滨,赵艳丽,等.复合纤维素降解菌对城市落叶的降解研究[J].安徽农业科学,2009,37(6):2399-2401.

[19] 杨泉林,胡振域.草坪栽培及养护技术[J].现代农业科技,2014(20):170-171.