

高效玉米秸秆降解复合菌系的筛选

王珊珊,金昱言,赵 凯

(黑龙江大学 生命科学学院/微生物黑龙江省高校重点实验室/农业微生物技术教育部工程研究中心,黑龙江 哈尔滨 150080)

摘要:为了促进玉米秸秆快速腐解还田,使秸秆资源能够在田间得到高效利用,减少环境污染,对实验室保藏的纤维素降解菌和木质素降解菌进行组合,以筛选高效降解玉米秸秆的微生物菌系,并通过玉米秸秆失重率、木质纤维素降解率评价该微生物菌系对玉米秸秆的降解效果。结果表明:由蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)、少孢根霉(*Rhizopus microsporus*)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)组成的复合菌系对玉米秸秆的降解效果最好,秸秆失重率为29.83%,纤维素降解率为56.14%、半纤维素降解率为47.98%、木质素降解率为42.18%。高效降解玉米秸秆复合菌系的筛选对解决秸秆还田,提高土壤肥力和作物产量具有重要的现实意义和经济意义,同时,也可解决环境污染,具有一定的社会和生态效益。

关键词:玉米秸秆降解;复合菌系;秸秆失重率;木质纤维素

中图分类号:S188 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)04-0039-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.04.0039

秸秆具有可再生、成本低、来源广、用途多等优点,而成为了最具潜力的生物质能源物质。但是,在秸秆处理问题上一直未得到有效解决。焚烧、化学处理会污染环境,物理处理能耗成本高且不适于大规模应用^[1]。通过微生物处理促进秸秆还田率不仅可以改变土壤的微生物群落结构,增加多数水解酶的活性,还可以提高土壤有机碳含量^[2]。近年来,已有不少学者对产纤维素酶复合菌株的秸秆降解进行了研究^[3-4]。由于玉米秸秆成分中约80%为纤维素、半纤维素、木质素^[5],且难以降解的木质素将纤维素及木质素包裹在内。若想对纤维素及半纤维素的高效降解,首先要除去木质素这一屏障^[6],由纤维素和木质素降解菌组成的复合菌系降解秸秆可以解决这些问题。本研究将对解决秸秆还田,提高土壤肥力和作物产量具有一定的科学意义和现实意义;同时,还可以解决环境污染,具有一定社会和生态效益。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品 供试菌株为黑龙江大学生物制药实验室保藏的纤维素降解菌蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)HDZK-DLCB4、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)HDZK-DLCB9、出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)HDZK-BYTF620、木质素降解菌少孢根霉(*Rhizopus microsporus*)HDZK-DLCF1和苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)HDZK-DLCB5。

玉米秸秆购自海润苜蓿秸草发展有限公司。

1.1.2 培养基 秸秆降解培养基:(NH_4)₂SO₄ 20.0 g、尿素 3.0 g、蛋白胨 3.0 g、CaCl₂ 0.1 g、MgSO₄·7H₂O 5.0 g、NaCl 0.1 g、FeSO₄·7H₂O 0.05 g、MnSO₄·7H₂O 0.016 g、ZnSO₄·7H₂O 14.0 g、CoCl₂ 0.02 g、蒸馏水 1 000 mL。

Mandels 营养液:(NH_4)₂SO₄ 1.4 g、KH₂PO₄ 2 g、尿素 0.3 g、MgSO₄·7H₂O 0.3 g、CaCl₂ 0.3 g、FeSO₄·7H₂O 7.5 mg、MnSO₄·H₂O 2.5 g、ZnSO₄ 2 mg、CoCl₂ 3 mg、蒸馏水 1 000 mL。

1.2 方法

1.2.1 不同组合纤维素降解菌株对玉米秸秆的降解效果 将纤维素降解菌株进行单一培养和复合培养,测定玉米秸秆失重率和纤维素降解率。

玉米秸秆失重率测定:将4 mL菌液(细胞数

收稿日期:2016-03-07

基金项目:教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目(No. NCET-12-0707);黑龙江省高等学校农业微生物发酵技术科技创新团队资助项目(2012td009)

第一作者简介:王珊珊(1989-),女,黑龙江省伊春市人,在读硕士,从事微生物资源挖掘与利用方面的研究。E-mail: 925967916@qq.com。

通讯作者:赵凯(1973-),男,黑龙江省阿城市人,教授,博士研究生导师,从事生物制药方面的研究。E-mail:zybin395@126.com。

或孢子数为 10^8 个·mL⁻¹)接种到玉米秸秆发酵培养基中,常温降解 14 d 后用蒸馏水冲洗,105℃烘干后称重。失重法计算秸秆失重率。复合菌株接种前将菌液等体积混合后稀释至细胞数或孢子数为 10^8 个·mL⁻¹。

木质纤维素含量测定参照 Van Soest 法^[7]。木质纤维素降解率参照 Tsang^[8]方法。

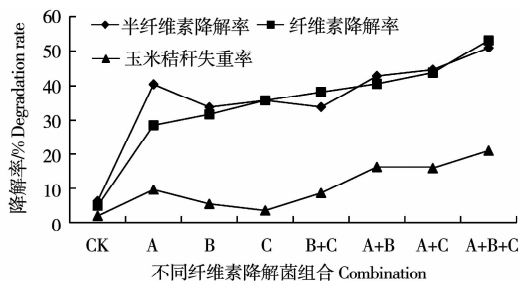
1.2.2 不同组合木质素降解菌株对玉米秸秆的降解效果 将木质素降解菌株进行单一培养和复合培养,测定玉米秸秆失重率和木质素降解率。

1.2.3 纤维素降解菌与木质素降解菌复合对玉米秸秆的降解效果 将纤维素降解能力强的菌株和木质素降解能力强的菌株复合,测定秸秆失重率、木质纤维素降解率,筛选出高效降解秸秆的复合菌株。

2 结果与分析

2.1 不同组合纤维素降解菌株对玉米秸秆的降解效果

从图 1 看到,由 HDZK-BYTF620、HDZK-DLCB4 和 HDZK-DLCB9 组成的复合菌系,玉米秸秆失重率比两两组合的玉米秸秆失重率有所提高,玉米秸秆失重率为 21%,纤维素降解率为 53.09%,半纤维素降解率为 50.97%。



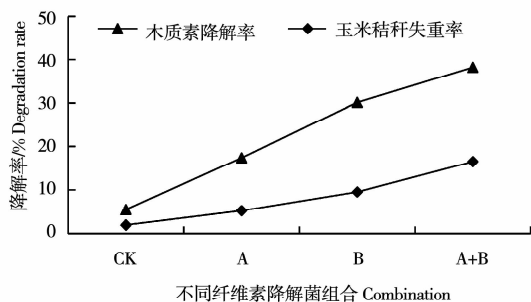
A: HDZK-BYTF620; B: HDZK-DLCB4; C: HDZK-DLCB9;
CK: 未接菌处理组
A: HDZK-BYTF620; B: HDZK-DLCB4; C: HDZK-DLCB9;
CK: Control group without inoculation

图 1 不同组合纤维素降解菌株的玉米秸秆失重率

Fig. 1 Weight loss rate of maize straw treated by different composite microbial system

2.2 不同组合木质素降解菌株对玉米秸秆的降解效果

从图 2 看到,由 HDZK-DLCB5 和 HDZK-DLCF1 组成的木质素降解菌系的玉米秸秆失重率(16.5%)高于单一菌株的玉米秸秆失重率。木质素降解率(38.21%)高于单一菌株的木质素降解率。



A: HDZK-DLCB5; B: HDZK-DLCF1; CK: 未接菌处理组

A: HDZK-DLCB5; B: HDZK-DLCF1; CK: Control group without inoculation

图 2 不同组合木质素降解菌处理玉米秸秆木质素的降解率

Fig. 2 Lignin degradability of maize stalk treated by different composite microbial system

2.3 纤维素降解菌与木质素降解菌复合对玉米秸秆的降解效果

将高效降解纤维素复合菌系(HDZK-BYTB620、HDZK-DLCB4、HDZK-DLCB9)与高效降解木质素复合菌系(HDZK-DLCB5、HDZK-DLCF1)复合后,玉米秸秆失重率为 29.83%、纤维素降解率为 56.14%、半纤维素降解率为 47.98%、木质素降解率为 42.18%。

3 结论与讨论

近几年研究人员已从单菌株秸秆降解转向复合菌系的秸秆降解试验^[9]。利用微生物之间的协同作用来研究复合菌株功能备受人们的重视^[10]。

细菌生长迅速、可快速降解,真菌生长慢,需一段时间后才有明显降解效果。此外,真菌菌丝体可以穿透秸秆表层结构,增大与秸秆的接触面积^[11]。因此,本试验筛选由细菌和真菌构成木质纤维素降解菌系(枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、出芽短梗霉、少孢根霉、苏云金芽孢杆菌)可快速长时间作用于秸秆。14 d 后玉米秸秆失重率为 29.83%、纤维素降解率为 56.14%、半纤维素降解率为 47.98%、木质素降解率为 42.18%。降解效果比纤维素降解菌和木质素降解菌系略高。说明该复合菌系无拮抗作用,酶系构成较合理。

本试验下一步将对获得的复合菌系发酵培养条件进行优化,确定复合菌系干粉制造工艺,并通过放大试验验证该微生物秸秆降解菌剂对玉米秸秆的降解能力。本研究将对解决秸秆还田,提高土壤肥力,提高作物产量具有重要的现实意义和经济意义,同时本研究也可解决环境污染,具有一

定的社会和生态效益。

参考文献:

- [1] 杜静,陈广银,黄红英,等. 温和湿热预处理对稻秸秆理化特性及生物产沼气的影响[J]. 中国环境科学, 2016, 36(2): 485-491.
- [2] Zhao Shingcheng, Li Kejiang, Zhou Wei, et al. Changes in soil microbial community, enzyme activities and organic matter fractions under long-term straw return in north-central China [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2016, 216: 82-88.
- [3] 李平,王焰新,刘琨,等. 高效纤维素降解菌系的构建[J]. 中国地质大学学报, 2009, 34(3): 533-538.
- [4] 王海滨,韩立荣,冯俊涛,等. 高效纤维素降解菌的筛选及复合菌系的构建[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(4): 421-431.
- [5] 王金主,王元秀,李峰,等. 玉米秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的测定[J]. 山东食品发酵, 2010, (3): 44-47.
- [6] Pérez J, Muñoz-Dorado J, Rubia T D L, et al. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview [J]. International Microbiology, 2002, 5(2): 53-63.
- [7] Guo Peng, Wang Xiaofen, Zhu Wanbin, et al. Degradation of corn stalk by the composite microbial system of MC1 [J]. Journal of Environment Sciences, 2008, 20(1): 1-6.
- [8] Tsang L J, Reid I D, Coxworth E C. Delignification of Wheat Straw by *Pleurotus* spp. under Mushroom-Growing Conditions [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1987, 53(6): 1304-1306.
- [9] Liu Changli, Wang Xiaofen, Wang Xiaojuan, et al. The Character of normal temperature straw-rotting microbial community [J]. Agricultural Sciences in China, 2010 9(5): 713-720.
- [10] 冯炘,裴宇航,周晓飞,等. 纤维素降解菌的筛选与高效混合菌群的构建[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2012, 40(4): 155-160.
- [11] 何一平,袁博,王瑞刚,等. 纤维素高效降解真菌-细菌复合系的筛选及其分解特征[J]. 内蒙古农业大学学报, 2010, 31(3): 177-180.

Screening of Composite Microbial System for Efficient Degradation of Maize Straw

WANG Shan-shan, JIN Yu-yan, ZHAO Kai

(Laboratory of Microbiology, Engineering Research Center of Agricultural Microbiology Technology of Ministry of Education, College of Life Science, Heilongjiang University, Harbin, Heilongjiang 150080)

Abstract: In order to promote maize stalks rapid decomposition, so that maize stalks resources can be efficient use in the field, study the straw decomposition effects of different composite microbial system. After degraded, take weight loss rate of maize straw and lignocellulose degradation rate as standards, evaluation the maize stalks degraded effects of different composite microbial system. Finally, optimized the fermentation conditions of composite microbial system which has best maize stalk degraded effect. The results showed that the composite microbial system which compose of *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Aureobasidium pullulans*, *Rhizopus*, *Bacillus thuringiensis* had higher maize stalks degraded effect. The maize stalks weight loss rate was 29.83%, the degradation rate of cellulose, hemicellulose and lignin were respectively 56.14%, 47.98%, 42.18%. Screening of high efficient degradation of maize straw composite microbial system have important practical significance and economic significance to solve the straw, improve soil fertility and crop yield; At the same time, it also solve the environmental pollution, have a certain social and ecological benefit.

Keywords: maize stalk degradation; composite microbial system; straw weight loss rate; lignocellulose