



周文生,朱金霞,郑国保,等.贺兰山东麓引黄灌区土壤中纤维素高效降解细菌的分离筛选[J].黑龙江农业科学,2022(5):34-39,40.

# 贺兰山东麓引黄灌区土壤中纤维素高效降解细菌的分离筛选

周文生<sup>1</sup>,朱金霞<sup>2</sup>,郑国保<sup>2</sup>,孔德杰<sup>2</sup>,芮 婷<sup>1</sup>

(1.宁夏回族自治区核地质调查院,宁夏 银川 750021;2.宁夏农林科学院 农业生物技术研究  
中心,宁夏 银川 750002)

**摘要:**为分离筛选出秸秆纤维素高效降解细菌,从而促进宁夏土壤微生物资源开发利用及水稻秸秆降解。本研究以宁夏贺兰山东麓银川平原引黄灌区杨树林下土壤为试材,利用羧甲基纤维素钠培养基对可培养微生物进行分离纯化,测定初筛细菌菌株羧甲基纤维素酶(CMCase)活性及滤纸最高酶活性,开展滤纸条崩解试验、秸秆崩解及降解率试验。结果表明:从土壤中分离纯化出 127 株细菌;其中纤维素降解能力较强的有 13 株;不同菌株 D/d 值、羧甲基纤维素最高酶活性、滤纸酶活性及滤纸条降解能力具有一定差异性,各指标的最大值均不是同一菌株。综合各项指标,确定菌株 362、菌株 225 和菌株 402 可以用于水稻秸秆的高效降解。

**关键词:**宁夏引黄灌区;秸秆;纤维素降解细菌;酶活性

水稻秸秆中纤维素含量高达 64%<sup>[1]</sup>,秸秆还田能够通过木质纤维素的生物转化<sup>[2]</sup>,解决农业废弃物资源化利用的难题,同时能增加土壤养分及多种微量元素、补充土壤有机质、改善土壤理化性质及培肥地力等<sup>[3-7]</sup>,最终促进土壤质量提升,是循环农业的关键环节,微生物在这个过程中发挥着重要作用<sup>[8]</sup>。自然界中存在着大量具有纤维素降解功能的菌株,土壤中蕴含量尤为丰富<sup>[9]</sup>。宁夏贺兰山东麓银川平原引黄灌区自然环境较为特殊,孕育了特殊的土壤微生物资源,但目前为止对土壤微生物资源挖掘和利用较少。

国内外科研工作者在秸秆纤维素降解菌种筛选方面开展了大量研究,目前研究成果较多且应用效果较为突出的主要包括平菇<sup>[10]</sup>、香菇<sup>[11]</sup>、双孢蘑菇<sup>[12]</sup>等大型食用真菌,还包括青霉、木霉<sup>[13]</sup>、白腐菌<sup>[14]</sup>等。但这些真菌培育及秸秆降解时环境条件要求较高,对温度较为敏感、pH 作用范围狭窄等问题突出<sup>[15]</sup>,相比较而言细菌适应性更强,应用前景更为广阔。因此,获取更为高效的秸秆纤维素降解细菌成为了今后的研究热点<sup>[16]</sup>。

本研究从宁夏贺兰山东麓银川平原引黄灌区杨树林下土壤中分离纯化出细菌菌株,利用羧甲基纤维素钠水解圈法进行初筛,结合羧甲基纤维素酶(CMCase)活性测定、滤纸条崩解试验、秸秆崩解及秸秆降解试验等,确定各菌株纤维素降解能力,并筛选出纤维素高效降解细菌,以期对宁夏引黄灌区土壤微生物资源的开发及高效纤维素降解细菌的利用提供研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 样品来源 2021 年 6—7 月,在宁夏银川平原引黄灌区杨树林下采集土壤,去除土壤表面动植物残体等杂质后,取 0~10 cm 表层土壤样品,在自封袋中混匀后封口,冷藏运回实验室,备用。

1.1.2 培养基 分离纯化培养基(CMC 培养基):羧甲基纤维素钠(CMC-Na)10.0 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0 g, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1.0 g, CaCl<sub>2</sub> 0.02 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.2 g, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.05 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1.0 L。

液体菌种培养基:牛肉膏 5.0 g, 蛋白胨 10.0 g, NaCl 5.0 g, 蒸馏水 1.0 L。

液体产酶培养基:CMC-Na 5.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 g, NaNO<sub>3</sub> 3.0 g, KCl 0.5 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.01 g, 蒸馏水 1.0 L。

滤纸液体培养基:(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 g, 酵母膏 0.1 g, 蒸馏

收稿日期:2022-01-28

基金项目:宁夏回族自治区重点研发计划项目(2021BEG03 011);宁夏农林科学院农业自主科技创新专项(DWX-2018 026)。

第一作者:周文生(1978—),男,硕士,高级工程师,从事资源环境与生态研究。E-mail:575629492@qq.com。

通信作者:朱金霞(1977—),女,硕士,副研究员,从事农业微生物研究。E-mail:jinxiazhu001@163.com。

水 1.0 L;每个三角瓶放置滤纸条(1 cm×3 cm) 3 条。

秸秆液体培养基:CMC-Na 10.0 g,蛋白胨 2.0 g,NaCl 0.5 g,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0 g,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g,酵母膏 0.5 g,蒸馏水 1.0 L;再加入 0.5 g 干燥水稻秸秆块(长度为 0.5~1.0 cm)。

## 1.2 菌株分离筛选

1.2.1 菌株分离和纯化 将新鲜土壤样品用无菌水制成  $1 \times 10^{-6}$  悬液,吸取 0.2 mL 均匀涂布于分离纯化培养基平板上,于 28 °C 生化培养箱中倒置培养 5 d,挑取单菌落进行纯培养,获取纯化菌株,具体步骤参照卢闯等<sup>[17]</sup>的方法。

1.2.2 菌株培养和初筛 将生长均匀的纯化菌株同培养基一起制成直径 5 mm 菌饼,无菌条件下接种于分离纯化培养基上,置于 28 °C 生化培养箱中培养 5 d。利用  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  刚果红染色静置 15 min,倒去培养皿中多余刚果红溶液后,加入  $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 溶液 5.0 mL,摇匀后静置 5 min,用 5.0 mL 蒸馏水润洗 2~3 次。观察培养基上菌落周围是否产生透明水解圈,并利用游标卡尺测定水解圈直径(D)与菌落直径(d),计算 D/d 比值,3 次重复,具体参照杨井泉等<sup>[18]</sup>和余新松等<sup>[19]</sup>的方法。

1.2.3 种子菌悬液制备方法 用接种环挑取固体培养基上的单菌落,接种于 50 mL 无菌液体菌种培养基,28 °C 震荡培养 24 h,吸取菌悬液 1.0 mL 再转接至 50 mL 无菌液体培养基中,28 °C 震荡培养 24 h 后制成种子菌悬液。

## 1.3 羧甲基纤维素酶(CMCase)活性测定

1.3.1 葡萄糖标准曲线的绘制 主要参照房兴堂等<sup>[20]</sup>和费笛波等<sup>[21]</sup>的方法,操作步骤略有改进,具体方法:无水葡萄糖于 80 °C 烘干至恒重,制成  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  标准葡萄糖溶液。取 6 支 25 mL 容量瓶,分别吸入标准葡萄糖溶液 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 和 1.0 mL,补加蒸馏水至 1.0 mL,分别再加入 DNS 试剂 1.5 mL,于沸水浴中反应 5 min,取出后迅速冷却并定容至 25 mL,利用分光光度计,于波长 540 nm 处测定 OD 值,并绘制标准曲线。

1.3.2 粗酶液的制备 将液体产酶培养基分装于 250 mL 三角瓶中,每瓶 45 mL,常规条件灭菌冷却至室温。无菌条件下接入 5 mL 种子菌悬液,置 28 °C 摇床震荡培养,在培养 1, 3, 5, 7, 9 和 11 d 时,吸取 1.5 mL 发酵液于离心管中,在 4 °C,转速  $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,所得上清

液即为粗酶液,在泡沫箱内冰袋保存待用,4 h 内完成测定。

1.3.3 CMCase 酶活力的测定 取 0.1 mL 粗酶液、1.9 mL 质量分数为 1% 的 CMC-Na 溶液于 25 mL 容量瓶中。45 °C 恒温条件下水解 20 min,参照 1.3.1 中方法测定 540 nm 时的 OD 值,并计算出葡萄糖含量( $m_1$ )。另取上清液 0.1 mL,补加蒸馏水至 1.0 mL,再加 DNS 试剂 1.5 mL,沸水浴中反应 5 min,定容至 25 mL,在波长 540 nm 处比色,计算粗酶液中葡萄糖含量( $m_2$ ),按照公式(1)计算纤维素降解菌的酶活力(单位:  $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。

$$M = (m_1 - m_2) \times 10 \times 1\,000 / 180.16 \quad (1)$$

## 1.4 滤纸条崩解实验及滤纸酶活力测定

将滤纸液体培养基分装于 300 mL 三角瓶中,每瓶 45 mL,常规条件灭菌冷却至室温。无菌条件下接种种子菌悬液 5 mL,置 28 °C 摇床震荡培养( $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ),定期观察滤纸条崩解情况,并用 DNS 比色法测定并计算葡萄糖含量( $m_3$ ),再测定对应时间粗酶液中葡萄糖含量( $m_2$ ),按照公式(2)计算滤纸酶活性 N(单位:  $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),具体步骤参照 1.3.3 中方法。

$$N = (m_3 - m_2) \times 10 \times 1\,000 / 180.16 \quad (2)$$

## 1.5 秸秆崩解及秸秆降解率测定

将秸秆液体培养基分装于 300 mL 三角瓶中,每瓶 45 mL,加入滤纸条后,常规条件灭菌冷却至室温。无菌条件下接种 5 mL 种子菌悬液,28 °C 恒温振荡培养,每天观察秸秆的崩解程度。培养 20 d 后,将培养物  $5\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,弃上清液,用蒸馏水清洗 3 次,秸秆部分 50 °C 烘干至恒重,计算秸秆降解率。对照为接入 5 mL 无菌水的秸秆液体培养基,3 次重复。

## 1.6 数据分析

试验数据利用 Excel 2016 和 DPS 18.10 进行处理和分析,相关性采用 SPSSAU 数据科学分析平台进行分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 葡萄糖标准曲线

以葡萄糖含量(mg)为横坐标,以对应的 OD 值为纵坐标,绘制葡萄糖标准曲线。从图 1 中可以看出,葡萄糖标准溶液的回归方程为  $y = 0.558x - 0.0077$ ,相关系数( $R^2$ )为 0.9993,线性范围为  $0 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

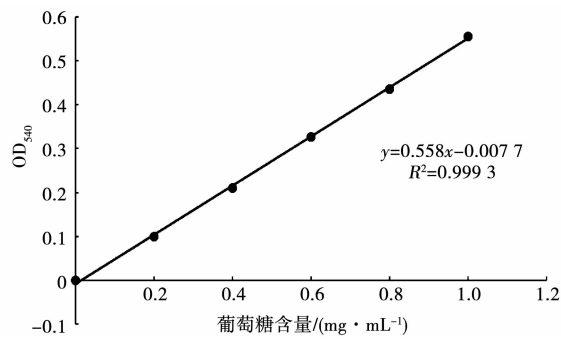


图 1 葡萄糖标准曲线

2.2 菌株的分离与初步筛选

综合形态学和显微观察对分离菌株进行初步判定。从 4 个土壤样品中共分离纯化出细菌 127 株,以培养 5 d 时 D/d 比值>3.0 为筛选标准,经初筛获得 13 株具有较强羧甲基纤维素降解能力的菌株,结果如表 1 所示。不同菌株 D/d 比值差异显著,菌株 362、菌株 402 和菌株 303 位居前三,分别可达10.11、7.12 和 6.71。不同菌株粗酶液 CMCase 最高酶活力差异显著( $P<0.05$ ),菌株 225、菌株 239 和菌株 362 位居前三,分别可达 127.55,124.70 和 105.41  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外,不同菌株酶活性最大值出现时间也有差异,菌株 112、菌株 178、菌株 204、菌株 267、菌株 303、菌株 362 和菌株 402 在第 3 天时达最大,菌株 126、菌株 177、菌株 321、菌株 355 在第 5 天时达最大,菌株 225 和菌株 239 在第 7 天时达最大,表明不同菌株达最高酶活所需时间也存在明显差异。

表 1 各菌株的 CMCase 活力评价

菌株 编号	D/d 比值	CMCase 最高酶活力/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	最高酶活出现时间/d
112	3.18±0.05 gh	58.64±1.12 hi	3
126	3.28±0.03 gh	80.58±1.29 ef	5
177	3.28±0.15 gh	57.78±1.17 i	5
178	4.54±0.07 f	92.83±0.76 cd	3
204	4.55±0.03 f	65.83±0.78 gh	3
225	3.48±0.06 g	127.55±3.06 a	7
239	3.47±0.05 g	124.70±2.16 a	7
267	5.73±0.11 e	76.11±1.19 f	3
303	6.71±0.02 c	86.65±2.58 de	3
321	3.10±0.03 h	90.61±1.31 cd	5
355	6.11±0.08 d	97.36±1.34 c	5
362	10.11±0.09 a	105.41±1.42 b	3
402	7.12±0.02 b	73.26±1.02 fg	3

2.3 滤纸条崩解效果及滤纸酶活力比较

由表 2 可知,不同菌株滤纸纤维素最高酶活差异显著,菌株 402、菌株 225 和菌株 355 位居前三,分别可达 110.04,94.75 和 87.09  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。不同菌株最高滤纸纤维素酶活出现时间存在差异,菌株 112、菌株 178、菌株 225、菌株 239、菌株 303、菌株 355 和菌株 402 均在震荡培养第 3 天出现最高酶活,菌株 177、菌株 321 和菌株 362 均在震荡培养第 5 天出现最高酶活,菌株 126 和菌株 204 均在震荡培养第 7 天出现最高酶活,而菌株 267 在震荡培养第 9 天出现最高酶活。

表 2 各菌株的滤纸纤维素酶活力评价

菌株 编号	滤纸纤维素最高 酶活/( $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	最高酶活出现时间/d
112	73.71±1.57 def	3
126	56.02±0.99 gh	7
177	75.67±1.87 def	5
178	51.58±0.78 h	3
204	51.40±0.79 h	7
225	94.75±2.43 b	3
239	70.55±1.13 ef	3
267	65.97±2.23 fg	9
303	78.21±0.82 cde	3
321	83.77±0.58 cd	5
355	87.09±1.04 bc	3
402	110.04±5.31 a	3
362	70.63±1.59 ef	5

由表 3 可知,不同菌株滤纸条崩解能力差异显著。13 d 内 8 株细菌可将滤纸条完全崩解,菌株 112 和菌株 362 对滤纸条降解能力最强,在 5 d 内可将滤纸条完全崩解(图 2)。

2.4 秸秆降解率

将筛选获得的 13 株纯化菌株菌悬液接种于秸秆液体培养基中,震荡培养 20 d 后,各菌株对秸秆的崩解效果存在一定差异。13 株细菌中,菌株 362、菌株 225 和菌株 402 对秸秆的崩解效果较好,在震荡培养 20 d 时,水稻秸秆降解率分别可达 83.6%、67.2% 和 62.8%(图 3),降解效果详见图 4。

2.5 相关性分析

从表 4 可知,D/d 比值与秸秆降解率呈极显著正相关关系( $r=0.491,P<0.01$ )。CMCase 最高酶活与秸秆降解率呈极显著正相关关系( $r=0.524,P<0.01$ ),其它指标之间相关关系不显著。

表 3 各菌株的滤纸崩解效果

菌株编号	滤纸条崩解能力							
	1 d	2 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d
112		+	++	++++				
126		+		++		++++		
177		+	++		++++			
178			+		++			++++
204			+			++		
225				+		++		++++
239			+			++		++++
267					+		++	
303		+		++				
321			+			++		
355				+		++		
362		+	++	++++				
402			+	++	++++			

注: +代表滤纸条断裂; ++代表滤纸条被崩解一半; ++++代表滤纸条被完全崩解。

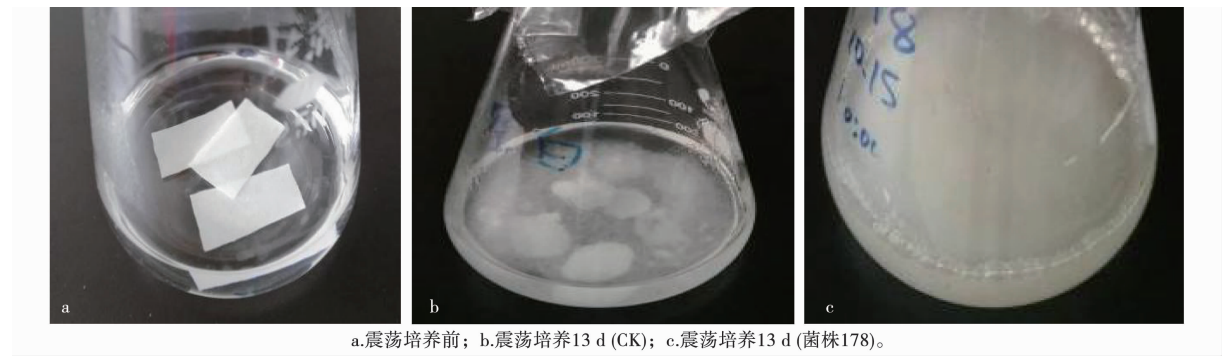


图 2 滤纸条降解效果比较

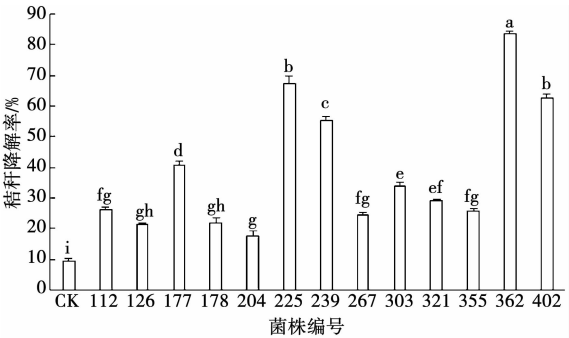


图 3 各菌株的水稻秸秆降解率比较

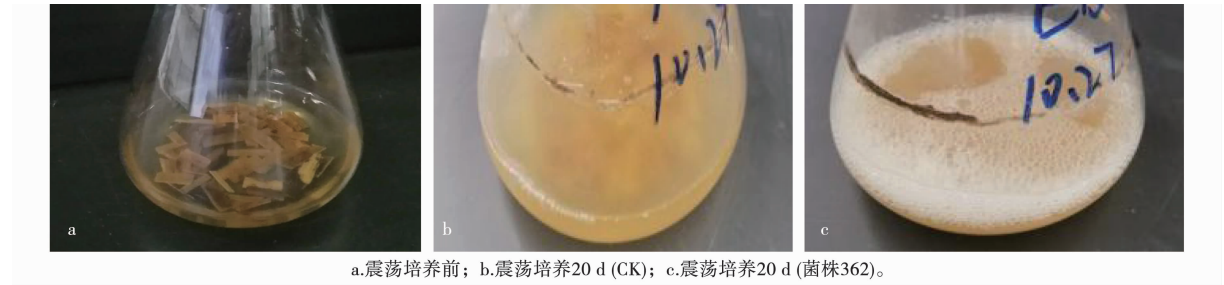


图 4 秸秆降解效果比较

表 4 各指标 Pearson 相关性分析

项目	D/d 比值	CMCase 最高酶活	滤纸纤维素最高酶活	秸秆降解率
D/d 比值	1			
CMC 最高酶活	0.107	1		
滤纸纤维素最高酶活	0.167	-0.212	1	
秸秆降解率	0.491**	0.524**	0.111	1

注：\* 和 \*\* 分别表示在  $P\leq 0.05$  和  $P\leq 0.01$  水平差异显著。

3 讨论

土壤微生物是土壤生态系统的主要组成部分,维系着人类和地球生态系统的可持续发展,是地球元素循环过程的关键环节<sup>[22]</sup>。因土壤质地、水分状况、肥力、季节、作物种植情况、土壤深度等因素不同,土壤微生物类别、数量及分布等存在较大差异<sup>[23-25]</sup>。土壤微生物以细菌、真菌、放线菌为主,占微生物总量的 95% 以上<sup>[26]</sup>,其中土壤细菌数量占比最大、种类最多、功能各异、繁殖迅速,对土壤肥力形成、植物营养转化有极其重要的作用<sup>[27-28]</sup>。土壤中含有丰富的纤维素降解细菌,可利用和降解土壤中的木质纤维素,如作物秸秆、根茎、枝叶等,转化成可吸收和利用的小分子物质,促进土壤肥力提高和生态系统养分循环,进而推动地球生物化学循环<sup>[29]</sup>。

秸秆纤维素是植物细胞壁中第一大碳水化合物,占植物界碳含量的 50% 以上,主要由吡喃葡萄糖以  $\beta$ -1,4-糖苷键连接而成的直链多聚体多糖<sup>[30]</sup>。通常,利用刚果红染色法对纤维素降解菌进行初筛,原理基于刚果红可与纤维素类多糖物质形成红色复合物,但当纤维素被分解后,就不能形成红色复合物,但可在菌落周围培养基中形成透明圈<sup>[31]</sup>。一般菌株产酶活性越高,D/d 比值越大,因此可根据 D/d 比值大小,来初步判断菌株产纤维素酶能力高低<sup>[32-34]</sup>。然而,Chang 等<sup>[35]</sup>研究也发现,一些没有秸秆降解能力的菌株也可能在刚果红培养基上形成透明水解圈。且徐春森等<sup>[36]</sup>的研究结果表明,菌株在羧甲基纤维素钠培养基上形成的透明圈直径(D)、D/d 比值均与秸秆降解效果没有显著相关关系。因此,根据菌株在羧甲基纤维素钠培养基上的 D/d 值来鉴定和筛选菌种可能会形成一定的误差。本研究发现,D/d 比值与菌株 CMC 最高酶活、水稻秸秆降解率均呈极显著正相关关系( $r=0.491,P<0.05$ )。因此,可以根据 D/d 比值来初步判断秸秆纤维素降解能力,研究结果与徐春森等<sup>[36]</sup>存在一定差异,可能与秸秆种类、菌种等因素有关。

本试验利用羧甲基纤维素钠培养基对土壤悬液进行培养,一步完成了土壤中以羧甲基纤维素钠为碳源微生物的分离和初筛,与常规方法<sup>[37-39]</sup>相比,获得的菌株可以羧甲基纤维素钠为碳源,且一般菌株数量较少,故可减少后续进一步菌种筛选工作量,显著提高工作效率。

4 结论

从引黄灌区杨树林下土壤样品中分离纯化出以羧甲基纤维素钠为唯一碳源的细菌有 127 株,其中纤维素降解能力较强的细菌 13 株,菌株 362、菌株 402 和菌株 303 的 D/d 分别可达 10.11、7.12 和 6.71。

不同菌株羧甲基纤维素最高酶活、滤纸酶活及滤纸条降解能力具有一定的差异性。菌株 362、菌株 225 和菌株 402 对水稻秸秆的崩解效果较好,20 d 降解率分别可达 83.6%、67.2% 和 62.8%,可将这 3 株细菌应用于水稻秸秆降解研究。

参考文献:

[1] REDDY N, YANG Y Q. Properties of high-quality long natural cellulose fibers from rice straw[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2006, 54(21): 8077-8081.

[2] 于建光,常志州,李瑞鹏,等. 农艺措施对麦秸腐解初期生化特征的影响[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(6): 1252-1257.

[3] 张波. 高标准农田建设培肥地力综合措施应用[J]. 农业与技术, 2019, 39(13): 47-48.

[4] 韦建玉,王政,徐天养,等. 秸秆覆盖与揭膜互作对坡耕地烟田土壤细菌群落及烟叶品质的影响[J]. 土壤通报, 2021, 52(1): 82-89.

[5] 刘慧屿,何志刚,刘艳,等. 低温堆腐与秸秆深翻还田对玉米产量及土壤微生物群落的影响[J]. 土壤通报, 2021, 52(4): 873-884.

[6] 曹明,朱启林,汤水荣,等. 添加秸秆及其生物物质炭对淹水条件下砖红壤 N<sub>2</sub>O 和 CH<sub>4</sub> 排放的影响[J]. 土壤通报, 2021, 52(4): 895-902.

[7] FAN W, WU J G, AHMED S, et al. Short-term effects of different straw returning methods on the soil physicochemical properties and quality index in dryland farming in NE China [J]. Sustainability, 2020, 12: 1-12.

[8] 张瑞福,颜春荣,张楠,等. 微生物肥料研究及其在耕地质量提升中的应用前景[J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(5): 8-16.

- [9] 钮旭光,韩梅,韩晓日.宏基因组学:土壤微生物研究的新策略[J].微生物学通报,2007,34(3):576-579.
- [10] 吴旭东,王亚洲,王艺霖.红平菇单、双核菌株对稻草的降解能力比较[J].食用菌,2021,43(4):10-12.
- [11] 刘柱杉,徐帅,孙晓仲,等.利用玉米秸秆栽培香菇的品质及重金属元素安全评价[J].中国食用菌,2021,40(4):38-46.
- [12] 朱燕华,王倩,宋晓霞,等.基于稻、麦秸秆工厂化栽培双孢蘑菇的理化性质变化研究[J].中国农学通报,2017,33(7):86-91.
- [13] 冯欣欣,李凤兰,徐永清,等.新疆寒冷地区腐木中产纤维素酶菌株的筛选与低温产酶特性[J].浙江农业学报,2021,33(8):1468-1476.
- [14] 张芳芳,张桐,戴丹,等.高效木质素降解菌的筛选及其对玉米秸秆的降解效果[J].菌物学报,2021,40(7):1869-1880.
- [15] 赵红霞,詹勇,杨建军.白腐真菌降解秸秆作物研究及应用[J].中国饲料,2003(15):25-27.
- [16] 耿丽平,陆秀君,赵全利,等.秸秆还田土壤中高效纤维素分解菌的筛选及其特性[J].江苏农业科学,2012,40(5):302-305.
- [17] 卢闯,逢焕成,张建丽,等.增施磷肥对重度盐碱地食葵生长及土壤微生物区系的影响[J].农业环境科学学报,2017,36(2):329-337.
- [18] 杨井泉,张云峰,高磊,等.2株兼具除臭功能的纤维素降解细菌的分离鉴定[J].家畜生态学报,2018,39(9):46-51.
- [19] 余新松,邵建扬,孙春巧,等.一株产耐高温蛋白酶蜡样芽胞杆菌的分子鉴定和酶学性质研究[J].核农学报,2020,34(8):1698-1704.
- [20] 房兴堂,陈宏,赵雪锋,等.秸秆纤维素分解菌的酶活力测定[J].生物技术通讯,2007,18(4):628-630.
- [21] 费笛波,冯观泉,袁超.饲用木聚糖酶活性测定方法的研究[J].浙江农业学报,2004,16(2):53-58.
- [22] 朱永官,沈仁芳,贺纪正,等.中国土壤微生物组:进展与展望[J].中国科学院院刊,2017,32(6):554-565.
- [23] BROCKETT B F T, PRESCOTT C E, GRAYSTON S J. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 44(1):9-20.
- [24] LILIENSIEK A K, THAKURIA D, CLIPSON N. Influences of plant species composition, fertilisation and *Lolium perenne* ingression on soil microbial community structure in three Irish Grasslands[J]. Microbial Ecology, 2012, 63(3):509-521.
- [25] WORTMAN S E, DRIJBER R A, FRANCIS C A, et al. Arable weeds, cover crops, and tillage drive soil microbial community composition in organic cropping systems[J]. Applied Soil Ecology, 2013, 72(5):232-241.
- [26] 孙曙光,周建,信培林,等.烟田土壤微生物与养分关系研究进展[J].江西农业学报,2011,23(7):118-120.
- [27] 薛成玉,吴凤芝,王洪成,等.浅论酚酸与土壤微生物之间的相互作用[J].黑龙江农业科学,2005(3):45-47.
- [28] 王津,魏赛金,魏丽梅.秸秆腐熟剂对水稻秧苗素质及育秧基质微生物的影响[J].核农学报,2021,35(10):2413-2422.
- [29] DAS S, DE M, GANGULY D, et al. Depth integrated microbial community and physico-chemical properties in mangrove soil of Sundarban, India[J]. Advances in Microbiology, 2012, 2(3):234-240.
- [30] 朱金霞,孔德杰,尹志荣.农作物秸秆主要化学组成及还田后对土壤质量提升影响的研究进展[J].北方园艺,2020(5):146-153.
- [31] 刘爽.中低温秸秆降解菌的筛选及其秸秆降解效果研究[D].北京:中国农业科学院,2011.
- [32] 孙玲,吴景贵,李建明,等.纤维素降解细菌对玉米秸秆的降解效果[J].吉林农业大学学报,2019,41(4):402-407.
- [33] 张必周,高聚林,于晓芳,等.玉米秸秆低温降解菌的分离与鉴定及复配菌降解效果研究[J].玉米科学,2020,28(6):168-175.
- [34] 张庆华,赵新海,李莉,等.秸秆降解菌的筛选及模拟田间应用效果分析[J].微生物学杂志,2010,30(4):101-104.
- [35] CHANG A J, FAN J, WEN X. Screening of fungi capable of highly selective degradation of lignin in rice straw[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2012, 72:26-30.
- [36] 徐春森,韦中,廖汉鹏,等.一种评价稻秆降解菌分解能力的方法[J].南京农业大学学报,2015,38(3):417-423.
- [37] 吴文韬,鞠美庭,刘金鹏,等.一株纤维素降解菌的分离、鉴定及对玉米秸秆的降解特性[J].微生物学通报,2013,40(4):712-719.
- [38] 李林超,张超,董庆,等.堆肥过程中纤维素降解菌的分离与鉴定[J].生物技术通报,2019,35(9):165-171.
- [39] 吴婧,聂彩娥,朱媛媛,等.一株兼具产 IAA 能力纤维素降解菌的筛选、鉴定及条件优化[J].生物技术通报,2020,36(12):54-63.

## Isolation and Screening of Cellulose-degrading Bacteria in the Soil of Yellow River Irrigation Area at the Eastern Foot of Helan Mountain

ZHOU Wen-sheng<sup>1</sup>, ZHU Jin-xia<sup>2</sup>, ZHENG Guo-bao<sup>2</sup>, KONG De-jie<sup>2</sup>, RUI Ting<sup>1</sup>

(1. Ningxia Nuclear Industry Geological Prospecting Institute, Yinchuan 750021, China; 2. Institute of Agricultural Biotechnology Research Center, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Science, Yinchuan, Yinchuan 750002, China)



罗婵,王宇,丛克强,等.23.5%环磺酮·莠去津可分散油悬浮剂防治玉米田一年生杂草效果与安全性[J].黑龙江农业科学,2022(5):40-44.

## 23.5%环磺酮·莠去津可分散油悬浮剂防治玉米田一年生杂草效果与安全性

罗 婵,王 宇,丛克强,郭玉莲

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**为明确 23.5%环磺酮·莠去津可分散油悬浮剂对玉米田一年生杂草的防效及最佳用量,采用随机区组试验设计方法进行田间药效试验。结果表明:23.5%环磺酮·莠去津可分散油悬浮剂在有效成分用量为 564.0、634.5、705.0 和 1 269.0 g·hm<sup>-2</sup> 的条件下,施药后 30 d,对玉米田一年生杂草总平均株数防效分别为 95.0%、97.2%、99.0% 和 100.0%;总草平均鲜重防效分别为 97.5%、98.9%、99.6% 和 100.0%,与空白对照相比,玉米增产率分别为 99.9%、102.7%、103.0% 和 103.9%。由此可知,23.5%环磺酮·莠去津可分散油悬浮剂在本试验剂量下,于玉米苗后、杂草 2~4 叶期进行茎叶喷雾处理,对玉米安全,除草效果好,有增产作用,可作为玉米田主要除草剂使用。推荐的 23.5%环磺酮·莠去津可分散油悬浮剂防治玉米田一年生杂草的适宜施药剂量为 160~180 mL·(666.7 m<sup>2</sup>)<sup>-1</sup>,即有效成分用量为 564~705 g·hm<sup>-2</sup>。

**关键词:**23.5%环磺酮·莠去津可分散油悬浮剂;玉米;杂草防效;安全性

玉米是我国种植面积最大的农作物,2020 年全国播种面积达 4 126.4 万 hm<sup>2</sup>,总产量 2.606 7 亿 t<sup>[1]</sup>。玉米田化学除草剂的使用是减轻玉米草害,保障玉米高产、稳产的重要措施<sup>[2]</sup>。截至 2022 年 2 月,我国登记的玉米田除草剂有 1 935 个,其中,单剂 978 个,混剂 957 个。除草剂单剂登记中,数量排名第一的是以烟嘧磺隆为有效成分的产品,

数量为 296 个;其次是乙草胺,285 个;莠去津,203 个<sup>[3]</sup>。随着这几种除草剂的大量应用,已经出现了一系列问题,如作物药害、杂草抗药性、农药残留等<sup>[4]</sup>。有研究报道烟嘧磺隆对部分玉米会产生药害<sup>[5]</sup>。还有一些除草剂受环境因素影响,也会产生药害,例如酰胺类的除草剂,玉米播种后,如果温度过高或过低,长时间处于阴雨条件下,容易产生药害<sup>[6]</sup>。吴翠霞等<sup>[7]</sup>、宋伟丰等<sup>[8]</sup>、井秋月等<sup>[9]</sup> 分别报道不同地区稗草对烟嘧磺隆产生了抗药性。莠去津长期大量施用导致其在农田土壤、地下水等自然环境中的残留,污染环境,但莠去津拥有较强的其他除草剂无法比拟的可混性,且增效作用明显<sup>[10]</sup>。因此,需要筛选一些更优良的除草剂,既可以和莠去津进行混配,降

收稿日期:2022-01-16

**基金项目:**黑龙江省应用技术与开发计划重大项目(GA 19B104-3);黑龙江省农业科学院“农业科技创新跨越工程”专项(HNK2019CX14)。

**第一作者:**罗婵(1984—),女,硕士,助理研究员,从事农田杂草防治研究。E-mail:luochan1984528@126.com。

**通信作者:**郭玉莲(1970—),女,博士,研究员,从事杂草防治、除草剂应用技术及环境毒理学研究。E-mail:ylguo70@163.com。

**Abstract:** In order to isolate and screen out bacteria which could degrade straw cellulose efficiently, so as to promote the development and utilization of soil microbial resources and rice straw degradation in Ningxia. In this study, the soil under poplar forest in the Yellow River Diversion Irrigation Area of Yinchuan Plain at the eastern foot of Helan Mountain in Ningxia was used as test material. The culturable microorganisms were isolated and purified by using sodium carboxymethyl cellulose medium. The activity of methyl cellulase (CMCase) and the highest enzyme activity of filter paper were determined. The filter paper disintegration experiment, straw disintegration and degradation rate experiment were carried out. The results showed that 127 strains of bacteria were isolated and purified from the soil, and 13 strains had strong cellulose degradation ability among them; the D/d values of different strains, the highest enzyme activity of carboxymethyl cellulose, filter paper enzyme activity and filter paper degradation ability were different, and the maximum values were not the same strain. In conclusion, the strains number of 362, 225 and 402 can be used for efficient degradation of rice straw.

**Keywords:** Yellow River Diversion Irrigation Area of Ningxia; cellulose-degrading bacteria; enzyme activity