黑龙江农业科学 2023(12):82-86
Heilongjiang Agricultural Sciences
http://hljnykx.haasep.cn
DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2023.12.0082

闹干朝鲁,张赛楠,赵明敏,等.复合菌系 17N 对玉米秸秆的降解作用[J].黑龙江农业科学,2023(12):82-86.

复合菌系 17N 对玉米秸秆的降解作用

闹干朝鲁[1],张赛楠[2],赵明敏[1],张　鑫[2],李　斌[2],青格尔[2],韩升才[1]
(1.内蒙古农业大学 园艺与植物保护学院,内蒙古 呼和浩特 010019;2.内蒙古农业大学 农学院,内蒙古 呼和浩特 010019)

摘要:秸秆是一类重要的生物质能源,但由于秸秆直接还田后降解速率慢,影响下一茬作物的生长;因此,筛选秸秆降解菌对于农业生产中秸秆还田的高效利用尤为重要。为筛选能够快速高效降解玉米秸秆的菌系资源,将玉米秸秆壳分别浸泡于土浸液、土浸液(10%培养基)、土浸液(20%培养基)和纯净水中。结果表明,14 和 35 d 时的土浸液对玉米秸秆壳的降解率均高于纯净水的降解率,且土浸液与土浸液(10%培养基)、土浸液(20%培养基)的降解率无明显差异。土浸液中进一步分离获得了复合降解菌系 17N,用该复合菌系的发酵液浸泡三角瓶中的玉米秸秆壳,14 和 35 d 时土浸液与复合菌系 17N 发酵液的降解率均高于纯净水。复合降解菌系 17N 发酵液对埋土玉米秸秆块具有良好的降解效果,优于三角瓶中对玉米秸秆块的降解效果。灭菌花盆土+灭菌网袋秸秆块+600 mL 发酵液的降解率为 37.0%,未灭菌花盆土+灭菌网袋秸秆块+600 mL 发酵液的降解率为 24.7%,三角瓶+发酵液+秸秆块的降解率为 34.7%,不加发酵液的处理,即灭菌花盆土+灭菌网袋秸秆块处理的降解率仅为 18.1%,明显低于 3 个加发酵液的处理。说明复合菌系 17N 对埋土玉米秸秆具有良好的降解作用。

关键词:玉米秸秆;复合菌系;降解率;降解效果

秸秆还田是提高秸秆资源综合利用率、平衡农田生态系统和实现农业可持续发展的有效措施[1-2]。但由于玉米秸秆的组分多数为木质素和纤维素,分子间与分子内的氢键是限制这些组分被水解的关键问题,使得玉米秸秆还田后难以降解[3-5]。同时,大量的残留未腐烂的秸秆在腐解过程中会与农作物竞争氮营养,严重影响下茬农作物的生长发育[3,6-7]。因此,筛选玉米秸秆降解菌对于农业生产中玉米秸秆还田的高效利用具有重要意义。已有研究表明,添加有利于秸秆腐解的微生物菌剂可有效促进秸秆腐解[8-9]。添加外源微生物后,在适宜条件下能增加秸秆微生物的数量,在一定程度上加快秸秆分解,提高土壤综合酶的活性[10-13]。本团队研究发现,与未施菌剂对照(CK)相比,施用低温复合菌剂 GF-20 的效果比较明显,能在一定程度上加快玉米秸秆的分解进程,并影响土壤微生物群多样性[1,14]。复合菌剂 GF-20 的粉剂在实验室低温条件下对秸秆有较好的降解能力,可促进北方高寒地区玉米秸秆降解速率[15]。但是用 GF-20 研发的这些复合菌剂和粉剂在田间土壤试验当中的测试结果不太理想,尤其在近半年的越冬秸秆降解试验结果不尽如人意,因此有必要筛选更好的菌种或复合菌系。本研究通过玉米秸秆还田的土壤制备土浸液,从中分离获得复合菌系 17N,在室内三角瓶和花盆土中研究其对玉米秸秆的降解作用,以期为利用该复合菌系开发低温高效降解秸秆的新菌剂提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验地概况

试验于 2019—2022 年在内蒙古农业大学玉米中心(内蒙古包头市土默特右旗沟门镇)微生物实验室和内蒙古农业大学园艺与植物保护学院(内蒙古呼和浩特市赛罕区)植物病理学实验室进行。

1.2　材料

样品取自内蒙古呼伦贝尔市秸秆还田土壤。置于 4 ℃冷藏保存。玉米秸秆取自萨拉齐基地试验田(品种为先玉 335,纤维素含量为 50.36%,半纤维素含量为 33.59%,木质素含量为 9.65%)。洗净烘干后,除掉内瓤,把外壳切成(2.0~3.0 cm)×(0.2~2.0 cm)片状秸秆壳,烘干备用。秸秆块:切割成 2.0~3.0 cm 长、圆柱形,烘干备用。复合菌系 17N 从土壤样品中筛选获得。

基础培养基:硫酸铵[$(NH_4)_2SO_4$] 2.0 g、磷酸氢二钾(K_2HPO_4)1.0 g、氯化钠(NaCl)0.2 g、

收稿日期:2023-08-10
基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2022MS04012);国家重点研发计划项目(2017YFD0300804)。
第一作者:闹干朝鲁(1972—),男,博士,实验师,从事生物质资源利用与植物病害综合防治研究。E-mail:nborjigin@163.com。
通信作者:韩升才(1983—),男,博士,副教授,硕导,从事玉米秸秆降解与植物互作细菌的研究。E-mail:shengcaihan@imau.edu.cn。

硫酸镁($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)0.05 g、蒸馏水 1 L,按上述成分配成的培养液分装试管(1.8 cm×18.0 cm)中,每管约 10～15 mL,然后加入处理过的滤纸条(1.0×10.0 cm)贴于试管内壁,一半浸入培养液,一半露出液面。

1.3　方法

1.3.1　土浸液的制备　称取 100 g 秸秆还田土壤样品,放入 2 L 三角瓶中,加 1.5 L 纯净水,恒温 30 ℃、150 $r \cdot min^{-1}$,摇 4 h 后,4 层纱布过滤;把混浊泥水静置 30 min(自然沉淀),把沉淀下来的泥土和剩下的泥水移入棕色玻璃瓶备用,存放在4 ℃冷柜;留下 1 L 液体,用纯净水稀释,制备 7 L 土壤浸出液。

1.3.2　土浸液对玉米秸秆壳的降解试验　试验设计 4 个处理:200 mL 土浸液＋玉米秸秆壳2 g;土浸液(10%培养基),180 mL 土浸液＋20 mL 无机培养基＋玉米秸秆壳 2 g;土浸液(20%培养基),100 mL 土浸液＋100 mL 无机培养基＋玉米秸秆壳 2 g;200 mL 纯净水＋玉米秸秆壳 2 g 作为对照;3 次重复,分别置于 250 mL 的 18 个三角瓶中,室温下静置。

1.3.3　复合菌系 17N 的获得及其发酵液的制备　取 3.5 L 土壤浸出液,添加 17.5 g 玉米秸秆粉,pH7.0,溶氧量 15%～20%,温度 25～35 ℃,转速 150 $r \cdot min^{-1}$,置于容量 5 L 发酵罐里,发酵 7 d;在另 1 个完全相同的发酵罐里实施完全相同的试验;分别获得 2 份 3.5 L 复合菌系 17N 液体,共 7 L。制备 63 L 基础培养基于 100 L 发酵罐,添加 350 g 玉米秸秆粉,灭菌,温度降到室温后,以 10%接种,把之前获得 7 L 的复合菌系 17N,按照上述参数设定,发酵 7 d,制备出复合菌系 17N 发酵液。

1.3.4　复合菌系 17N 发酵液对瓶装玉米秸秆壳的降解试验　超净工作台里,分别取 50 mL 制备好的复合菌系 17N 发酵液装入 300 mL 灭菌三角瓶里,分别放进 2 g 灭菌玉米秸秆壳,温度 25 ℃,pH7.0,转速 200 $r \cdot min^{-1}$,静置培养。分别培养 14 和 35 d 后,过滤掉液体,把秸秆放进铝盒,于 80 ℃烘干 10 h 后称量质量,与 CK 对照算出实际降解率。

1.3.5　复合菌系 17N 发酵液对埋土玉米秸秆块的降解试验　取尼龙网袋 20 cm×16 cm(20 目),9 个,每袋称取 5 g 块状秸秆;取萨拉齐基地玉米地 0～30 cm 耕层土;直径 19 cm 的花盆 9 个,底部垫塑料布,以防漏液,其中 6 个花盆里,分别放 5 cm 厚土样,放 1 个网袋,再盖土至花盆的 7 成深,灭菌,还没放入花盆的 3 个网袋一并灭菌;灭菌后的 3 个网袋分别放入剩下 3 个花盆里,放土样至花盆的 7 成深,不再灭菌。

CK,灭菌花盆土＋灭菌网袋秸秆块;CK0,未灭菌花盆土＋灭菌网袋秸秆块＋600 mL 发酵液;T1,灭菌花盆土＋灭菌网袋秸秆块＋600 mL 发酵液;CK1,三角瓶＋发酵液＋秸秆块;分别设 3 次重复;放温室培养 42 d,观察玉米秸秆块降解效果。

1.3.6　测定项目及方法　利用失重法测定秸秆降解率。腐解后的玉米秸秆经洗净,80 ℃烘干,进行称量。

秸秆降解率(%)＝(原秸秆质量－秸秆残留质量)/原秸秆质量×100

1.3.7　数据分析　数据采用 Excel 2016 进行处理。

2　结果与分析

2.1　土浸液对玉米秸秆壳的降解效果

玉米秸秆壳是最难降解的部分。试验玉米秸秆壳浸泡于含有土浸液、土浸液(10%培养基)、土浸液(20%培养基)和纯净水的三角瓶中进行降解试验(图 1)。14 d 时,土浸液对玉米秸秆壳的降解率为 31.8%,高于纯净水的降解率(28.5%)。土浸液(10%培养基)的降解率为 30.8%,与土浸液的降解率差异不大。土浸液(20%培养基)的降解率为 32.8%,略高于土浸液。35 d 时,各处理的降解率菌均略升高,即土浸液对玉米秸秆壳的降解率为 32.7%、土浸液(10%培养基)的降解率为 33.8%、土浸液(20%培养基)的降解率为 37.7%、纯净水的降解率 29.5%(图 2)。

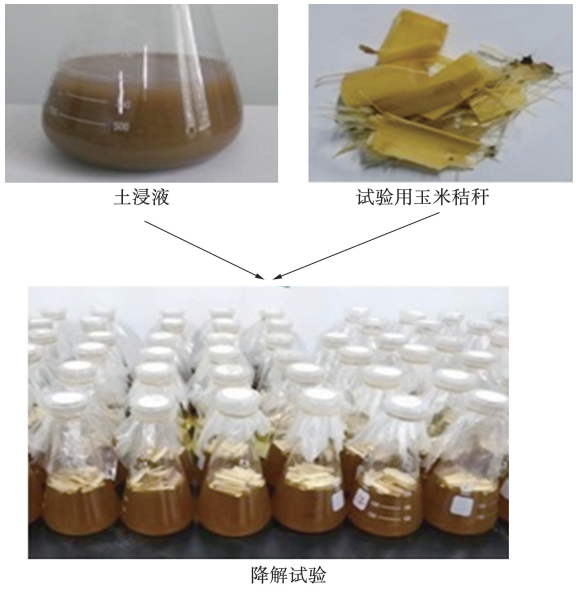

图 1　三角瓶中土浸液对玉米秸秆壳的降解试验

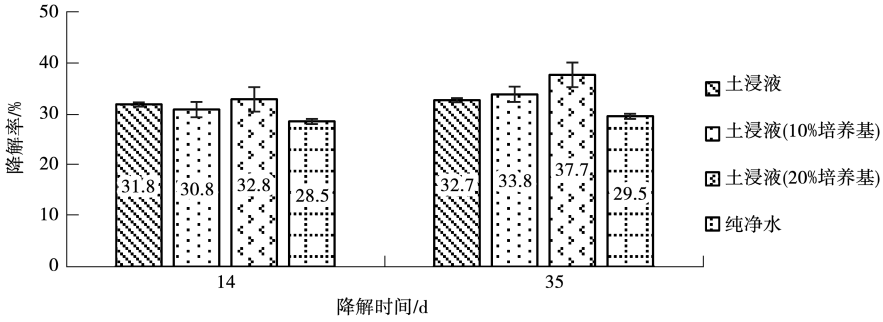

图 2　土浸液对玉米秸秆壳的降解效果

2.2　复合菌系 17N 发酵液对瓶装玉米秸秆壳的降解作用

从 32 份土浸液中筛选分离获得了复合降解菌系 17N。用该复合菌系的发酵液浸泡三角瓶中的玉米秸秆壳，14 和 35 d 时分析降解率。结果发现，土浸液与复合降解菌系 17N 发酵液的降解率均高于纯净水。14 d 时，土浸液对玉米秸秆壳的降解率为 32.5%，发酵液的降解率为 31.5%，纯净水的降解率为 27.8%。35 d 时，土浸液的降解率为 34.0%，发酵液的降解率为 33.5%，纯净水的降解率为 28.5%(图 3)。

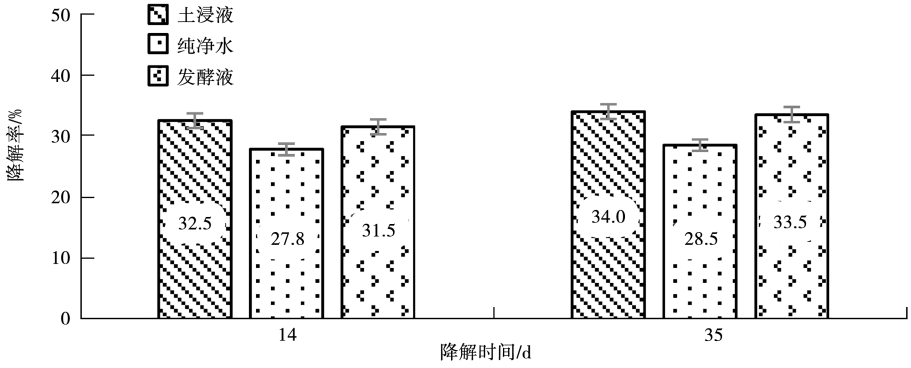

图 3　复合菌系 17N 发酵液对玉米秸秆壳的降解效果

2.3　复合降解菌系 17N 发酵液对埋土玉米秸秆块的降解效果

为研究复合菌系 17N 发酵液是否可应用到对玉米秸秆块的降解，试验将灭菌的玉米秸秆块装于灭菌网袋中，埋在灭菌花盆土里，再用发酵液浇灌浸没花盆土，42 d 时检测降解率(图 4)。

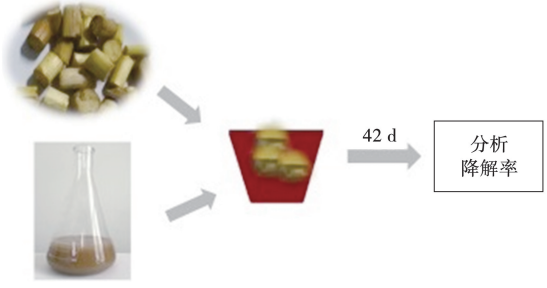

图 4　复合菌系 17N 发酵液对埋土玉米秸秆块降解的试验流程

结果发现，不加发酵液的处理，即灭菌花盆土＋灭菌网袋秸秆块(CK)处理的降解率明显低于 3 个加发酵液的处理。灭菌花盆土＋灭菌网袋秸秆块(CK)的降解率为 18.1%，灭菌花盆土＋灭菌网袋秸秆块＋600 mL 发酵液(T1)的降解率为 37.0%，未灭菌花盆土＋灭菌网袋秸秆块＋发酵液(CK0)的降解率为 24.6%，三角瓶＋发酵液＋秸秆块(CK1)的降解率为 34.6%(图 5)。说明发酵液对埋土玉米秸秆块具有良好的降解效果，优于三角瓶中对玉米秸秆块的降解作用。

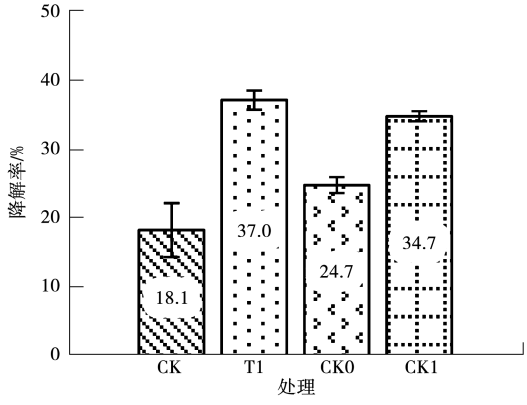

图 5　复合菌系 17N 发酵液对埋土玉米秸秆块的降解效果

3 讨论

利用微生物技术变废为宝是综合利用秸秆的关键。餐厨垃圾和废水污染土壤中筛选出来的纤维素降解菌,对秸秆进行一段时间发酵后,破坏了秸秆结构,扫描电子显微镜观察到秸秆的缺刻断裂,体现出其降解能力[16]。王新光等[17]构建的由枯草芽孢杆菌、蜡状芽孢杆菌和黑胡桃链霉菌等菌种组成的高效降解秸秆复合菌系,在温度 34 ℃和 pH7.2 条件下,发酵 6 d 的纤维素酶活性达到 164.21 $U \cdot mL^{-1}$,高于每个单菌种的酶活性,液体发酵结果显示,玉米秸秆的降解率均显著高于单菌种,降解率达到了 47%。

近些年来,有很多采用基因工程手段,构建新的工程菌用于降解秸秆的报道。高娃等[18]利用基因同源整合重组技术构建所得的降解木质素工程菌 ZHMX4 在反应温度 30 ℃和 pH3.0 时对玉米秸秆进行发酵后,木质素的降解率达到 50.12%。在自然界碳循环过程当中,真菌被普遍认为担当着主要角色。以比较传统的分离和纯化方法而获得的真菌 M1 表现出较高的漆酶和羧甲基纤维素酶活性,对木质素和纤维素都具有较好的降解能力[19]。袁宏等[20]获得的枯草芽胞杆菌 XJ-132 菌株,不仅能够加速降解水稻秸秆,同时还能促进水稻生长。诸如此类,有关秸秆在室温或者较高温度条件下降解的研究很多。但对于北方寒冷地带来说,要推广这些工程菌株用于秸秆降解并不现实,还要探索低温条件下的秸秆降解。

已有报道表明玉米秸秆低温降解复合菌系 GF-20 可有效加快秸秆分解,增加土壤微生物群落多样性[14];而且利用 GF-20 在实验室内研发出初步的降解秸秆菌剂,室内降解玉米秸秆试验结果较好[15],可一旦应用到大田验证,效果就不理想。台少华等[21]通过低温筛选方法,获得一株低温降解秸秆的木霉菌株 C47-3,该菌株在 15 ℃条件下,在液体培养基中发酵 15 d 后秸秆的降解率为 22.28%,已是低温下较不错的效果。本研究表明秸秆还田的土浸液对玉米秸秆具有明显的降解作用,14 和 35 d 降解率分别为 31.8%和 32.7%。同时,添加 10%或 20%培养基的土浸液对降解率影响不大,说明起降解作用的主要是秸秆还田的土壤浸出液。因此,进一步在土浸液中分离获得复合菌系 17N。该菌系对玉米秸秆壳有较好的降解作用,14 d 和 35 d 降解率分别为 31.5%和 33.5%,与土浸液的降解效果相似。这说明土浸液对玉米秸秆的降解效果主要来自于该复合菌系的作用。为研究复合菌系 17N 发酵液是否可应用到对玉米秸秆块的降解,将复合菌系 17N 的发酵液与埋土玉米秸秆混合后,静置 42 d。结果发现复合菌系 17N 发酵液能够有效降解埋土的玉米秸秆,降解率可达 37.0%。其中,花盆土灭菌与否直接影响降解率。推测,可能由于未灭菌的花盆土中的微生物影响了复合菌系 17N 的降解效果。后续将进一步深入研究复合菌系 17N 是否也促进土壤微生物多样性及其对玉米秸秆降解效果的影响,要结合传统的低温驯化技术和基因重组技术等有效措施,来开发复合菌系 17N 的低温高效秸秆降解菌剂。

4 结论

从土浸液中获得的复合菌系 17N,经过对玉米秸秆块进行 35 d 瓶装试验和 42 d 埋土试验发酵降解之后,玉米秸秆块的降解率分别达到 33.5%和 37.0%,能有效降解埋在土壤里的玉米秸秆。

参考文献:

[1] 青格尔,于晓芳,高聚林,等.玉米秸秆低温降解复合菌系降解能力及微生物组成研究[J].中国生态农业学报,2020,28(11):1753-1765.

[2] MUZAMIL M,MANI I,KUMAR A,et al. An engineering intervention to prevent paddy straw burning through in situ microbial degradation[J]. Journal of The Institution of Engineers (India):Series A,2021,102(1):11-17.

[3] PETERSSON L,KVIEN I,OKSMAN K. Structure and thermal properties of poly (lactic acid) /cellulose whiskers nanocomposite materials[J]. Composites Science and Technology,2007,67(11/12):2535-2544.

[4] LOOSE J S M,FORSBERG Z,KRACHER D,et al. Activation of bacterial lytic polysaccharide monooxygenases with cellobiose dehydrogenase[J]. Protein Science:a Publication of the Protein Society,2016,25(12):2175-2186.

[5] BARSBERG S,SELIG M J,FELBY C. Impact of lignins isolated from pretreated lignocelluloses on enzymatic cellulose saccharification[J]. Biotechnology Letters,2013,35(2):189-195.

[6] 秦子鎛,刘子琪,曾庆亚,等.玉米秸秆还田对东北黑土地生态效益的影响[J].安徽农业科学,2012,40(18):9711-9714.

[7] 李泽义,高九思,张利敏,等.玉米秸秆还田应用效果研究[J].现代农业科技,2012(12):238-239.

[8] FENG Y J,YU Y L,WANG X,et al. Degradation of raw

corn stover powder (RCSP) by an enriched microbial consortium and its community structure[J]. Bioresource Technology,2011,102(2):742-747.

[9] GAO Z M,XU X,RUAN L W. Enrichment and characterization of an anaerobic cellulolytic microbial consortium SQD-1.1 from mangrove soil[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2014,98(1):465-474.

[10] 周柳强,黄美福,罗文丽,等.粉碎和添加菌剂对红壤区自然堆沤条件下稻秆养分释放的影响[J].生态学报,2014,34(18):5200-5205.

[11] 张建峰,侯红燕,付志金,等.速腐菌剂在东北地区秸秆堆肥中的功能验证及微生物菌群动态研究[J].中国农学通报,2013,29(26):112-117.

[12] 鲁耀雄,涂晓嵘,程新,等.稻草还田配施菌剂对晚稻生长和土壤酶活性的影响[J].中国土壤与肥料,2013(6):32-36.

[13] BASSIL N M,SMALL J S,LLOYD J R. Enhanced microbial degradation of irradiated cellulose under hyperalkaline conditions[J]. FEMS Microbiology Ecology,2020,96(7):fiaa102.

[14] 青格尔,高聚林,于晓芳,等.玉米秸秆低温高效降解复合菌系 GF-20 的温度和 pH 适应性研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2017,45(1):156-164.

[15] 王振,于晓芳,高聚林,等.玉米秸秆低温高效降解复合菌系 GF-20 的粉剂配方及其降解效果研究[J].中国农学通报,2020,36(21):69-74.

[16] 黄青盈,吕嘉昕,何秋愉,等.纤维素降解菌种的筛选测定及其对秸秆的降解[J].复旦学报(自然科学版),2022,61(1):34-42.

[17] 王新光,田磊,王恩泽,等.玉米秸秆高效降解微生物复合菌系的构建及降解效果评价[J].生物技术通报,2022,38(4):217-229.

[18] 高娃,其布日,萨初拉,等.表达木质素降解酶的基因工程产朊假丝酵母菌部分生物学特性研究[J].中国饲料,2023(1):53-59.

[19] 白长胜,刘秋瑾,尹珺伊,等.产木质纤维素降解酶真菌的筛选及产酶特性[J].微生物学通报,2023,50(3):1098-1110.

[20] 袁宏,钱丹惠,叶文玲,等.一株促生秸秆降解菌的分离与鉴定[J].微生物学杂志,2023,43(1):77-84.

[21] 台少华,扈进冬,位绍文,等.低温降解秸秆木霉菌的筛选、鉴定及功能评价[J].山东科学,2023,36(2):50-58.

Degradation Effects of Compound Strain 17N on Maize Stalks

Naoganchaolu[1], ZHANG Sainan[2], ZHAO Mingmin[1], ZHANG Xin[2], LI Bin[2], Qinggeer[2], HAN Shengcai[1]

(1. College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China; 2. Agricultural College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China)

Abstract: Straw is a kind of important biomass energy. However, due to the slow degradation rate after the straw is directly returned to the field, it also affects the growth of the next crop. Therefore, screening degrading bacteria to straw is particularly important for the efficient utilization of straw in agricultural field. In order to screen bacterial resources that can degrade maize straw quickly and efficiently. In this study, maize straw husks were soaked in soil solution, soil solution (10% medium), soil solution (20% medium) and purified water, respectively. The degradation rate analysis at 14 days and 35 days showed that the degradation rate of maize stalks husks by soil leaching solution was higher than that of pure water. There was no obvious difference in the degradation rate between soil solution and soil solution (10% medium) and soil solution (20% medium). The composite degrading strain 17N was isolated from soil solutions. When the fermentation broth of the composite bacterial strain was soaked in the maize stalks husks in the triangular flask, the degradation rate of the soil solution and the fermentation broth of the composite bacterial strain 17N was higher than that of pure water at 14 days and 35 days. The results showed that the composite degrading strain 17N fermentation broth had a good degradation effect on buried maize stalks blocks, superior to the degradation effect on maize stalks blocks in a triangular flask. The degradation rate of the treatment without fermentation broth, namely sterilized flower pot soil + sterilized mesh bag straw block, was obviously lower than that of the three treatments with fermentation broth. The degradation rate of sterilized flower pot soil + sterilized mesh bag straw block was 18.1%, the degradation rate of sterilized flower pot soil + sterilized mesh bag straw block + fermentation broth was 37.0%, the degradation rate of not sterilized flower pot soil + sterilized mesh bag straw block + fermentation broth was 24.7%, and the degradation rate of triangular flask + fermentation broth + straw block was 34.7%. The results indicated that the composite strain 17N had a good degradation effect on buried maize stalks.

Keywords: maize stalks; compound strain; degradation rate; degradation effect