

李传宝,王宏燕,赵伟,等. 秸秆还田配施微生物菌剂与有机肥施用对黑土微生物量碳的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(5):265-268.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.05.069

# 秸秆还田配施微生物菌剂与有机肥施用 对黑土微生物量碳的影响

李传宝,王宏燕,赵伟,许毛毛,袁佳慧,李晓庆  
(东北农业大学资源与环境学院,黑龙江哈尔滨 150030)

**摘要:**为研究在“三分法”大垄深松耕作的基础上,施加秸秆还田配施微生物菌剂及有机肥对土壤微生物生物量碳的影响,在东北农业大学试验基地玉米种植模式下设置了田间试验。试验设 5 个处理,分别为大垄、大垄配施有机肥、大垄秸秆还田、大垄秸秆还田配施纤维素分解菌、大垄秸秆还田配施生物表面活性剂。经过 2 年的田间取样,测定玉米不同生育时期土壤微生物量碳含量。试验结果表明,在大垄深松的情况下,施用有机肥和秸秆还田均可提高土壤微生物量碳含量,年平均量提高了 23.04%、25.13%,且达显著水平;在大垄秸秆还田的基础上配施纤维素分解菌菌剂和生物表面活性剂,在玉米生育后期即灌浆期、成熟期对土壤微生物量碳影响显著,与大垄秸秆还田不配施菌剂处理相比,微生物量碳年平均量增加了 14.82%、26.70%,表明秸秆还田配施微生物菌剂具有更大的生态效益;2010、2011 年试验,二者呈现相似结果,与对照比较 2011 年不同处理土壤微生物量碳含量的增加更为明显。

**关键词:**秸秆还田;有机肥;生物菌剂;微生物量碳;玉米;大垄深松耕作  
**中图分类号:** S181      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2017)05-0265-03

土壤微生物量碳、氮是土壤碳素和氮素养分转化和循环研究中的重要参数,它们较为直观地反映了土壤微生物和土壤肥力状况<sup>[1]</sup>。土壤的微生物量是土壤有机质中有生命的一部分,对环境变化非常敏感,可以作为土壤生态系统的一个指标<sup>[2]</sup>,微生物量碳在区别长期与短期土壤处理方面也非常敏感,同时还受无机氮的直接影响<sup>[3]</sup>。而秸秆还田在提高土壤有机质和改善土壤理化性质的同时,又活化了土壤养分,促进了土壤微生物的活动<sup>[4-6]</sup>,可直接影响土壤微生物量碳的含量。本试验设计出一种全新的耕作技术——三分法大垄深松。所谓的三分法大垄深松是一种新的保护性耕作栽培技术,采用少耕播种、深松、秸秆还田的休闲联合栽培技术。具体为 140 cm 大垄耕作方式,40 cm 苗区,免耕播种;40 cm 为施肥区,深松,垄沟整施秸秆,进行秸秆翻埋;60 cm 空白区。每年采取三分法平移,3 年则可实现土壤全部秸秆还田处理,提高土壤肥力,增大土壤库容。

本研究目的在于通过大田试验,研究“三分法”大垄深松结合有机肥、秸秆还田配施生物菌剂技术对土壤微生物量碳的影响,明确有机肥、秸秆还田配施不同种类生物菌剂对大田微生物量碳的影响,为实现农作物增产和土壤肥力的有效保护、开发大田土壤固碳潜力、减少土壤碳排放提供科学依据。

## 1 材料与方法

收稿日期:2016-08-24  
基金项目:环保公益性行业科研专项(编号:201309036)。  
作者简介:李传宝(1978—),男,黑龙江虎林人,硕士,实验师,主要从事农业生态学研究。E-mail:89115560@qq.com。  
通信作者:王宏燕,博士,教授,主要从事农业生态学研究。E-mail:why220@126.com。

## 1.1 研究区域概况

试验地点位于黑龙江省哈尔滨市东北农业大学试验基地(45°34'N,126°22'E),气候属于寒温带大陆性气候,年降水量 400~600 mm,无霜期平均气温 3.78℃,平均有效积温 2 800℃。供试土壤理化性状见表 1。

表 1 供试黑土的理化性质	
理化性状	含量
有机质(g/kg)	4.36
全氮(g/kg)	0.19
全磷(g/kg)	0.21
碱解氮(mg/kg)	173
速效磷(mg/kg)	18
速效钾(mg/kg)	209

## 1.2 试验设计

供试作物为玉米哲丹 37。试验共设 5 个处理,每个处理重复 4 次,试验小区长 6 m,宽 7 m,面积为 42 m<sup>2</sup>。试验于 2009 年进行。试验田采用秋翻地处理,每年 11 月中旬将玉米鲜秸秆粉碎成 2~3 cm 段,施加菌剂处理则采用喷洒的方式施加菌剂,最后将秸秆与菌剂共同施用于下年的种植垄上并翻入耕种层,同时所有秸秆还田处理都配施尿素以调节碳氮比。试验设计为:(1)大垄,简称 B;(2)大垄+有机肥(每个小区施用发酵好的猪粪 100 kg),简称 BO;(3)大垄+秸秆还田(每个小区施用用鲜秸秆 37.50 kg+尿素 0.15 kg),简称 BC;(4)大垄+秸秆还田+纤维素分解菌(每个小区施用用鲜秸秆 37.50 kg+尿素 0.15 kg+纤维素分解菌菌液 1.9 kg),简称 BCC;(5)大垄+秸秆还田+表面活性剂(每个小区施用鲜秸秆 37.50 kg+尿素 0.15 kg+表面活性剂 0.9 kg),简称 BCS。

样品采集时间分别为 2010 年 4—10 月、2011 年 4—10 月,分 5 个时期采取,分别为苗期、拔节期、抽雄期、灌浆期、成

熟期,取土时间为 08:00。采集 0~20 cm 耕作层土壤,混合后迅速封装于塑料自封袋中带回,置实验室冰箱中冷藏待测。

### 1.3 测定方法

土壤微生物量碳采用氯仿熏蒸的方法<sup>[7]</sup>;其他土壤理化性质采用常规土壤农化分析方法测定<sup>[8]</sup>。

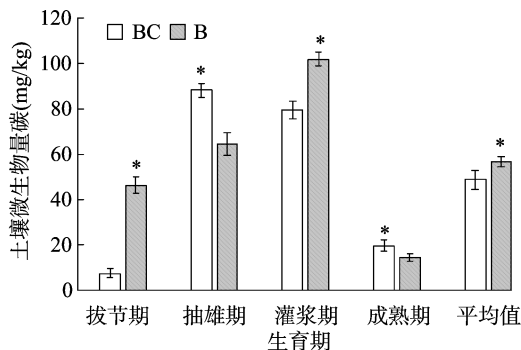
### 1.4 数据统计与分析

用 Excel 2003 进行数据处理,采用 SPSS 19.0 进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 秸秆还田对土壤微生物量碳的影响

将 B 处理与 BC 处理比较结果见图 1。在拔节期至成熟期间,大垄与大垄秸秆还田土壤微生物量碳含量的变化趋势一致,呈现缓慢增高后急剧降低的趋势;表现为抽雄期、成熟期 BC 处理的土壤微生物量碳含量高于 B 处理,分别高出 27.20%、36.69%,处理间差异显著;灌浆期表现为 B 处理高于 BC 处理,高出 21.82%。从年平均值上来看,B 处理的土壤微生物量碳含量显著高于 BC 处理,达 13.96%。



图柱上“\*”表示同一时期不同处理间差异显著。图2~图5同

图1 秸秆还田对土壤微生物量碳的影响

### 2.2 有机肥施用对土壤微生物量碳的影响

B 处理与 BO 处理比较结果见图 2。BO 处理与 B 处理土壤微生物量碳含量在拔节期到成熟期变化趋势一致,均是先增高后降低的趋势,玉米拔节期、收获期土壤微生物量碳含量很低,抽雄期、灌浆期土壤微生物量碳含量增高显著;在抽雄期、成熟期,施加有机肥的大垄处理土壤微生物量碳含量高于无秸秆大垄处理,分别高出 36.12%、46.92%,差异显著;而拔节期、灌浆期施加有机肥的大垄处理则低于大垄处理。从年平均值来看,施加有机肥大垄处理,对土壤微生物量碳含量影响并不大。

### 2.3 秸秆还田配施纤维素分解菌对土壤微生物量碳的影响

在秸秆还田的基础上将 BC 处理与 BCC 处理比较结果见图 3。从图 3 可以看出,BC 处理与 BCC 处理土壤微生物量碳含量的动态变化相近,BC 处理土壤微生物量碳含量在玉米拔节期、抽雄期与灌浆期均保持较高水平,在成熟期开始下降,而大垄秸秆还田在添加纤维素分解菌菌剂后,其变化趋势呈现先逐步增高到成熟期则急剧下降的趋势,不同生育时期土壤微生物量碳含量差异显著。在玉米拔节期、灌浆期、成熟期 BCC 处理的土壤微生物量碳含量高于 BC 处理,分别高出 140.0%、32.99%、42.70%,差异显著。从年平均值来看,添加纤维素分解菌的大垄秸秆还田处理土壤微生物量碳含量更高,比不添加菌剂者高出 14.82%,处理间差异显著。

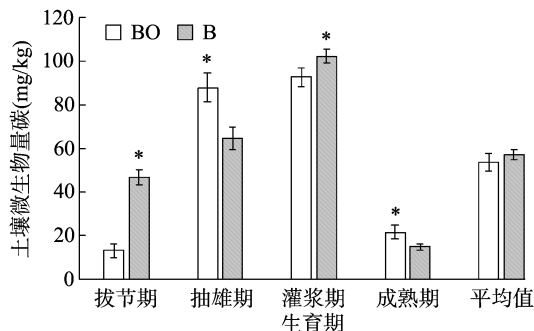


图2 配施有机肥对土壤微生物量碳的影响

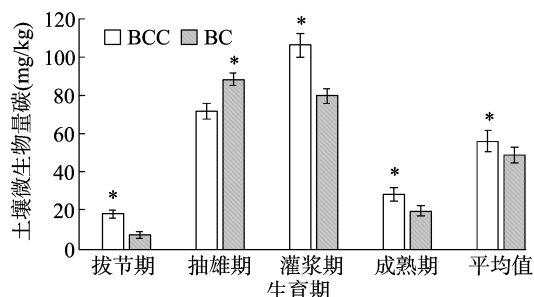


图3 施用纤维素分解菌对土壤微生物量碳的影响

### 2.4 秸秆还田添加表面活性剂对土壤微生物量碳的影响

在秸秆还田的基础上比较 BCS 处理与 BC 处理结果见图 4。土壤微生物量碳含量的变化趋势在二者间均表现为前高后低,但是添加表面活性剂后土壤微生物量碳含量在拔节期至成熟期之间变化更为显著;在拔节期、灌浆期、成熟期添加表面活性剂处理土壤微生物量碳含量比大垄秸秆还田处理分别高出 688.2%、41.74%、19.47%,差异达显著水平;从平均值来看,添加表面活性剂对大垄秸秆还田处理的土壤微生物量碳含量影响显著,与不添加的秸秆大垄处理相比,微生物量碳含量高出 26.70%。

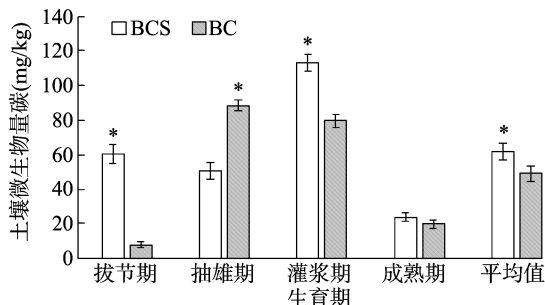


图4 施用表面活性剂对土壤微生物量碳的影响

### 2.5 不同年份间土壤微生物量碳含量比较

本试验历时 3 年,2010、2011 年不同处理微生物量碳的年平均综合比较结果见表 2。在 2010 年,与 B 处理比较,BO 处理、BC 处理显著降低了土壤微生物量碳的含量;BCC 处理、BCS 处理分别与 BC 处理相比较可以看出,在秸秆还田的基础上施加纤维素分解菌和表面活性剂均可以对土壤微生物量碳产生显著影响,使土壤微生物量碳的含量提高了 14.82%、26.70%。在 2011 年,与 B 处理比较,BC 处理对土壤微生物量碳的含量无显著影响;BO 处理则显著提高了土

壤微生物量碳的含量,提高了 68.08%;同时,BCC 处理和 BCS 处理与 BC 处理比较,均使土壤微生物量碳的含量增加了 27.16%。尽管 2011 年因气候等原因不同处理土壤微生物量碳的含量呈整体下降趋势,但是与对照比较,不同处理对土壤微生物量碳含量促进作用均大于 2010 年。

表 2 不同年份不同处理土壤微生物量碳含量年平均值比较

处理	生物量碳含量 (mg/kg)	
	2010 年	2011 年
B	56.93b	25.63c
BO	53.64c	43.08a
BC	48.98d	23.85c
BCC	56.24b	32.59b
BCS	62.06a	32.59b

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论与结论

免耕作为保护性土壤耕作的重要内容,在华北小麦—玉米两熟地区已进行大量研究。目前,有关免耕对土壤微生物量碳影响的研究报道较多,牛新胜等指出,秸秆覆盖免耕可提高土壤微生物量碳含量,并对其季节性变化产生影响等<sup>[9]</sup>。孔凡磊等试验结果表明,长期免耕土壤进行耕作处理后土壤微生物量碳的时空分布和稳定性产生显著变化,从生育期平均值看,0~5 cm 土层免耕处理 SMBC 含量较高,翻耕和旋耕处理则分别比免耕降低 6.7%、6.1%<sup>[10]</sup>;然而长期免耕土壤存在有机碳和养分表层富集、层化现象明显等土壤质量问题,对作物可持续生产存在威胁<sup>[11-12]</sup>。因此,免耕配合土壤合理耕作使土壤得到免耕修养同时保证土壤利用率是十分必要的。

本研究试验方案使一部分土壤得到免耕修复的同时提高了另一部分土壤的利用率,“种”和“休”相结合。结果表明,有机物投入和秸秆还田对玉米生育期内土壤微生物量均有较大的影响,二者对土壤微生物量的促进作用十分明显,尤其是在玉米生长的拔节期和抽雄期,本结论与曹志平等的研究结果<sup>[13]</sup>一致。主要是因为有机肥与秸秆还田都可以有效实现土壤碳源添加,从而增加农田生态系统的固碳潜力<sup>[14]</sup>,而碳源是微生物生长的一个重要因子<sup>[15]</sup>。

施用生物有机肥促进了微生物的繁殖,同时也增加了土壤养分和微生物量,为微生物提供了充足的碳源、氮源、无机盐等营养物质<sup>[16]</sup>。田小明等研究表明,选择高、中、低有机质含量不同的 3 种土壤,连续 3 年随着生物有机肥用量的增加,不同土壤均有不同程度的增加<sup>[17]</sup>。

而秸秆分解过程中产生可利用的氮及其他营养元素又促进了作物生长,增加了根的生长和根系分泌物,因而促进了土壤微生物的繁殖,提高了土壤微生物量<sup>[18]</sup>。汤宏等研究结果,高量秸秆还田且长期淹水较无秸秆还田且长期淹水有利于提高土壤中微生物量碳、氮<sup>[19]</sup>。

生物菌剂与生物有机复合肥已经成为研究农业可持续发展的热门话题。生物菌剂与秸秆还田配合使用不仅保证了农作物的碳、氮需求,还增加了有益菌含量,对土壤微生物调节和作物根系微环境的改变具有重要作用<sup>[20]</sup>。丁雷等研究表明,拮抗菌 S44 发酵菌液与有机肥配施,拮抗菌 S228 发酵菌

液与有机肥配施对盆栽棉花脲酶活性影响最大且其脲酶活性趋于稳定,同时二者土壤养分含量均比较高,能满足棉花对养分的需求<sup>[21]</sup>。本研究中大垄秸秆还田处理,在施加适量尿素用以调节碳氮比的同时,施加纤维素分解菌菌剂和表面活性剂对玉米生育后期土壤微生物量碳的含量产生显著的促进作用,表明施加纤维素分解菌菌剂加速了秸秆的分解速率,使有机碳较快输入到土壤生态系统中,从而加速了土壤微生物的生长和繁殖。

在玉米拔节期至成熟期,无论是秸秆还田还是施加有机肥与不同菌剂均可对土壤微生物量碳含量产生影响,但是影响程度并不相同。随着有机物的增加,大垄秸秆还田和施加有机肥,在玉米生育期内土壤微生物量碳随之显著增加,但从年平均值来看并无变化。大垄秸秆还田添加纤维素分解菌菌剂或者表面活性剂虽然在玉米生育前期表现出一定的抑制作用,但是随着时间变化,这种抑制作用会减弱,至玉米生长中后期表现出其潜力,极显著增加了土壤微生物量碳的含量,并在年平均值上呈现了优势。因此,在长期集约化的高化肥投入农业生态系统中要提倡土壤轮休、秸秆还田和多施有机肥与有益生物菌剂。

### 参考文献:

- [1]王继红,刘景双,于君宝,等. 氮磷肥对黑土玉米农田生态系统土壤微生物量碳、氮的影响[J]. 水土保持学报,2004,18(1):35-38.
- [2]臧逸飞,郝明德,张丽琼,等. 26 年长期施肥对土壤微生物量碳、氮及土壤呼吸的影响[J]. 生态学报,2015,35(5):1445-1451.
- [3]任天志. 持续农业中的土壤生物指标研究[J]. 中国农业科学,2000,33(1):71-78.
- [4]李启海. 秸秆还田技术的方式及影响[J]. 现代农业科技,2010(15):322-323.
- [5]Lou Y L, Xu M G, Wang W, et al. Return rate of straw residue affects soil organic C sequestration by chemical fertilization[J]. Soil & Tillage Research, 2011, 113(1):70-73.
- [6]Xu M G, Lou Y L, Sun X L, et al. Soil organic carbon active fractions as early indicators for total carbon change under straw incorporation[J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(7):745-752.
- [7]吴金水. 土壤微生物量测定方法及其应用[M]. 北京:气象出版社,2006.
- [8]鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [9]牛新胜,张宏彦,王立刚,等. 玉米秸秆覆盖冬小麦免耕播种对土壤微生物量碳的影响[J]. 中国土壤与肥料,2009(1):64-68,73.
- [10]孔凡磊,张明园,范士超,等. 耕作方式对长期免耕农田土壤微生物量碳的影响[J]. 中国生态农业学报,2011,19(2):240-245.
- [11]Blanco-Canqui H, Lal R. Soil structure and organic C-carbon relationships following 10 years of wheat straw management in no-till[J]. Soil & Tillage Research, 2007, 95(1/2):240-254.
- [12]Wu J, Brookes P C, Jenkinson D S. Formation and destruction of microbial biomass during the decomposition of glucose and ryegrass in soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1993, 25(10):1435-1441.
- [13]曹志平,胡 诚,叶钟年,等. 不同土壤培肥措施对华北高产农田土壤微生物量碳的影响[J]. 生态学报,2006,26(5):1486-1493.

杜东霞, 汪 彬. 1 株大分子有机物降解菌的分离、鉴定及酶学分析[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(5): 268–270.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.05.070

# 1 株大分子有机物降解菌的分离、鉴定及酶学分析

杜东霞, 汪 彬

(湖南省微生物研究院, 湖南长沙 410009)

**摘要:**通过平板培养法从高温堆肥中分离筛选出 1 株高温高效大分子有机物降解菌 W-10。W-10 具有同时分解纤维素、蛋白质和淀粉等大分子有机物的能力。该菌株的生长特性表明, 在 pH 值为 5.0、温度为 50 ℃ 时, 羧甲基纤维素酶(CMCase)、蛋白酶、 $\alpha$ -淀粉酶的酶活性达到最高值, 分别为 144.75、97.51、83.85 U/mL。将测得的 16S rDNA 基因序列在 NCBI 数据库中进行同源性比对, 综合形态特征和 16S rDNA 基因序列同源性分析, 将该菌株初步鉴定为芽孢杆菌属。

**关键词:**高温堆肥; 大分子有机物; 芽孢杆菌属; W-10

**中图分类号:** X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)05-0268-03

我国是农业大国, 年产各类秸秆约 8.0 亿 t, 占世界秸秆总量的 1/5 左右。这些秸秆除了一部分用于饲料、造纸、纺织和燃料加工外, 其余均作为农业废弃物丢弃或就地焚烧, 不仅浪费了宝贵的资源, 同时也污染了生存环境<sup>[1-2]</sup>。

通过高温堆肥降解农业废弃物是资源化利用的良好途径之一。高温堆肥是一种利用各种微生物高温高效降解有机废弃物, 并产生稳定的最终产物的过程。高温堆肥可有效促进纤维素废弃物的资源化利用, 并降低农业废弃物对环境的污染。在堆肥发酵过程中, 为缩短发酵周期及提高堆肥质量, 以人为方式添加一些高温微生物, 高温微生物产生的热稳定酶可将基质中的纤维素及木质素分解, 并产生大量的能量和热量, 不仅可以使农业废弃物转化为有机肥, 而且可以有效抑制堆肥中有害病原菌的孳生。在堆肥基质中, 除了纤维素外, 还有其他蛋白质及糖类的存在, 应深入研究并充分利用高温微生物对纤维素、蛋白质及糖类等大分子有机物的降解作用, 加速农业废弃物转化为有机肥。因此, 开展堆肥高温微生物的

研究具有重要的意义<sup>[3-5]</sup>。

本研究从堆肥中筛选出能够高效降解纤维素、蛋白质和淀粉的高温菌株, 并对其酶活性进行测定, 目的在于为高效降解大分子有机物菌株的选育和相关酶制剂开发提供菌种资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 样品采集 猪粪、城市生活垃圾及秸秆自然堆肥, 堆体温度上升到 55 ℃ 时, 采集中层样品于无菌器皿中, 4 ℃ 保存备用。

1.1.2 培养基 (1) 分离初筛培养基: 牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 5.0 g/L, 蛋白胨 10.0 g/L, NaCl 5.0 g/L, 水 1.0 L, pH 值为 7.2~7.4。

(2) 大分子有机物降解复筛培养基: 羧甲基纤维素钠培养基(CMC-Na 培养基): CMC-Na 15 g/L、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.0 g/L、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5 g/L、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1 g/L、NaCl 6.0 g/L、 $\text{CaCl}_2$  0.1 g/L, 固体培养基加 1.5% 琼脂, 加蒸馏水补至 1 L、pH 值为 7.0~7.5, 压力为 1.05 kg/cm<sup>2</sup>、灭菌 25 min。

(3) 刚果红纤维素鉴定培养基:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.2%、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%、NaCl 0.05%、CMC-Na 2%、刚果红 0.02%、琼脂 2%、pH 值自然。

收稿日期: 2016-06-15

基金项目: 湖南省自然科学基金(编号: 13JJ2035); 湖南省“一化四体系”专项资金。

作者简介: 杜东霞(1980—), 女, 山东菏泽人, 硕士, 助理研究员, 主要从事农牧废弃物资源化利用等方面的研究。E-mail: xiaoping310@126.com。

[14] 黄 耀, 孙文娟. 土壤学——近 20 年来中国大陆农田表土有机碳含量的变化趋势[J]. 科学通报, 2006, 51(7): 1.

[15] Gunapala N, Scow K M. Dynamics of soil microbial biomass and activity in conventional and organic farming systems[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1998, 30(6): 805–816.

[16] 张奇春, 王雪芹, 时亚南, 等. 不同施肥处理对长期不施肥区稻田土壤微生物生态特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(1): 118–123.

[17] 田小明, 李俊华, 王 成, 等. 连续 3 年施用生物有机肥对土壤养分、微生物生物量及酶活性的影响[J]. 土壤, 2014, 46(3): 481–488.

[18] Kanchikerimath M, Singh D. Soil organic matter and biological

properties after 26 years of maize-wheat-cowpea cropping as affected by manure and fertilization in a Cambisol in semiarid region of India[J]. Agriculture Ecosystems & Environment, 2001, 86(2): 155–162.

[19] 汤 宏, 沈健林, 张杨珠, 等. 秸秆还田与水分管理对稻田土壤微生物量碳、氮及溶解性有机碳、氮的影响[J]. 水土保持学报, 2013, 27(1): 240–246.

[20] 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.

[21] 丁 雷, 李俊华, 赵思峰, 等. 生物有机肥和拮抗菌对土壤有效养分和土壤酶活性的影响[J]. 新疆农业科学, 2011, 48(3): 504–510.