

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2023.05.016

张子贇, 朱林, 胡占琴, 等. 砂姜黑土中兼具促生功能的纤维素降解菌的筛选及其应用. 土壤, 2023, 55(5): 1062–1069.

## 砂姜黑土中兼具促生功能的纤维素降解菌的筛选及其应用<sup>①</sup>

张子贇<sup>1</sup>, 朱林<sup>1</sup>, 胡占琴<sup>1</sup>, 朱媛媛<sup>1</sup>, 卫正宇<sup>1,4</sup>, 张朝春<sup>3</sup>, 徐文思<sup>2</sup>, 马超<sup>1\*</sup>

(1 农田生态保育与污染防控安徽省重点实验室/安徽省绿色磷肥智能制造与高效利用工程研究中心/自然资源部江淮耕地资源保护与生态修复重点实验室/安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036; 2 安徽省土壤肥料总站, 合肥 230001; 3 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100091; 4 安徽荟农生物科技有限公司, 合肥 230036)

**摘要:** 为实现砂姜黑土地区秸秆资源化利用以及作物增产, 本研究从该区小麦-玉米轮作土壤中筛选具有促生功能的纤维素降解菌株。通过羧甲基纤维素酶活(CMC)与吲哚乙酸(IAA)分泌量测定, 筛选出 1 株具有高效降解纤维素的促生菌株。经形态学和分子生物学鉴定, 该菌株为普沙根瘤菌(*Rhizobium pusense*), 命名为 X2。小麦秸秆降解和玉米盆栽初步试验结果显示, X2 菌株经液态发酵 15 d 后小麦秸秆降解率为 16.1%, 较对照显著提升 65.4%; 接种该菌株后盆栽土壤中碱解氮含量较对照显著提高了 72.7%, 植株根系的平均直径、表面积以及地上部干物质量显著增加了 22.0%、28.6% 和 33.3%。为进一步提高该菌株的活性, 采用单因素试验对菌株的培养条件进行优化, 结果表明, X2 菌株在装液量为 25 mL/250 mL、氮源为酵母粉、pH 为 6.0 时生长和产 IAA 能力最优, 产酶的最适 pH 为 5.0。综上, 所筛菌株 X2 具有秸秆降解和玉米促生能力, 可在砂姜黑土地区为秸秆资源化利用提供新的微生物资源。

**关键词:** 砂姜黑土; 普沙根瘤菌; 秸秆促腐; 作物促生; 条件优化

**中图分类号:** S141.4 **文献标志码:** A

### Screening and Application of Cellulose Decomposing Bacteria with Growth Promoting Function on Shajiang Black Soil

ZHANG Ziyun<sup>1</sup>, ZHU Lin<sup>1</sup>, HU Zhanqin<sup>1</sup>, ZHU Yuanyuan<sup>1</sup>, WEI Zhengyu<sup>1,4</sup>, ZHANG Chaochun<sup>3</sup>, XU Wensi<sup>2</sup>, MA Chao<sup>1\*</sup>

(1 Anhui Province Key Lab of Farmland Ecological Conservation and Pollution Prevention/Anhui Province Engineering and Technology Research Center of Intelligent Manufacture and Efficient Utilization of Green Phosphorus Fertilizer/Key Laboratory of Jianghuai Arable Land Resources Protection and Eco-restoration, Ministry of Natural Resources, College of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2 Anhui Soil and Fertilizer Station, Hefei 230001, China; 3 College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100091, China; 4 Anhui Huinong Biotechnology Co., Ltd., Hefei 230036, China)

**Abstract:** In this study, cellulose-degrading strains with plant growth promotion were isolated and screened from wheat and corn rotation system in Shajiang black soil to achieve resource utilization of straw and high-stable maize production. By monitoring carboxymethyl cellulase activity (CMC) and indoleacetic acid (IAA) secretion, a high IAA-production ability strain with excellent efficiency in cellulose breakdown was identified. The X2 strain was identified as *Rhizobium pusense* based on morphology and physiological and biochemical properties as well as 16S rRNA gene sequence analysis. It was found that the straw degradation ratio could reach to 16.1% on the 15 d of liquid fermentation conditions, which was 65.4% higher than that of the control; in addition, alkaline nitrogen content in the potted soil was significantly higher than that of the control after inoculation with this strain. The average root diameter, surface area, and above-ground dry weight of the plants increased significantly by 22.0%, 28.6%, and 33.3%, respectively. To further improve the activity of the strain, the culture conditions of the strain were optimized using a single-factor test. The maximum growth, CMC activity, and IAA production were obtained at optimal fermentation conditions (liquid volume 25 mL/250 mL, yeast powder as nitrogen source, and pH 5.0–6.0). In summary,

①基金项目: 国家自然科学基金项目(32071628)、安徽省高校自然科学基金项目(KJ2021ZD0009)、安徽省科技重大专项(202103a06020012)和省级大学生创新训练项目(201910364086)资助。

\* 通讯作者(chao.ma@ahau.edu.cn)

作者简介: 张子贇(2000—), 女, 安徽六安人, 主要从事土壤生态学研究。E-mail: ziyunjiayou@163.com

the sieved X2 strain has the ability of straw degradation and maize promotion, it can provide a new microbial resource for straw resource utilization in Shajiang black soil area.

**Key words:** Shajiang black soil; *Rhizobium pusense*; Straw decomposition; Growth promoting; Condition optimization

我国农作物秸秆资源丰富, 年产量约为 10 亿吨<sup>[1]</sup>。秸秆还田可以改善土壤结构并提高作物产量, 是其资源化利用的有效方式之一<sup>[2]</sup>。然而, 秸秆本身由难降解的纤维素、半纤维素和木质素组成, 直接还田时腐解缓慢, 不能在短时间内完全腐解, 种植茬口紧时会造成翻耕困难以及影响后茬作物的生长<sup>[3]</sup>。因此, 加快还田秸秆腐解是当前农业亟待解决的问题之一。

目前, 国内外利用微生物降解还田秸秆的研究较多, 为了满足农业生产中的抗病、促生等多方面需求, 选育具有多重功能的秸秆降解菌株逐渐成为研究热点<sup>[4]</sup>。齐永志等<sup>[5]</sup>从麦玉秸秆还田土壤中筛选得到一株对小麦纹枯病菌具有拮抗作用的秸秆降解菌株; 吴晓华等<sup>[6]</sup>从 120 株地衣真菌中筛选出具有溶解无机磷、抑制病原菌且对黄瓜具有促生功能的高效降解纤维素菌株。然而不同环境中纤维素降解菌群的多样性和结构存在差异<sup>[7]</sup>, 菌种之间分泌的纤维素酶的组分比例和活性也不同<sup>[8]</sup>。在实际应用时, 常常受到培养条件等因素制约, 存在菌株纤维素酶活力低、发酵生产成本高等问题<sup>[9]</sup>。因此筛选高产纤维素酶菌株并且优化其发酵条件是纤维素分解和转化利用的关键<sup>[10]</sup>。

砂姜黑土质地黏重、干缩湿胀, 是分布于安徽淮北平原的主要中低产田土壤<sup>[11]</sup>。有研究表明, 长期秸秆还田可以减缓砂姜黑土孔隙土体的收缩, 提升土壤水、养库容<sup>[12]</sup>; 小麦或玉米秸秆还田后配施适量氮肥, 可以降低砂姜黑土中  $N_2O$  排放量和全球变暖潜力<sup>[13]</sup>。但还田秸秆腐解不及时导致的“泡沫田”问题可能会影响后茬作物出苗质量<sup>[14]</sup>。而吡啶乙酸 (IAA) 作为一种植物生长调节剂, 可以促进植物种子萌发、根系发育以及营养生长<sup>[15]</sup>。因此, 在砂姜黑土地区中筛选具有促生功能的秸秆降解菌 (如产吡啶乙酸菌株) 进行腐秆剂创制和应用是实现该地区秸秆资源化利用和作物增收的重要途径。

本研究拟从砂姜黑土地区中筛选具有促生功能的秸秆降解菌, 丰富地区腐秆菌株资源, 为适用于砂姜黑土区应用的高效腐秆菌剂开发奠定基础; 同时对所筛选的菌株进行最佳生长、产酶以及产吡啶乙酸条件分析, 为腐秆菌剂在安徽淮北平原地区的科学应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 样品** 菌种筛选分离采样点位于安徽省蒙城县内农业示范科技园区长期秸秆还田试验小区 (116°56'E, 33°26'N), 该定位试验始于 2008 年, 小区面积为 49.5 m<sup>2</sup>。供试土壤为砂姜黑土, 土样采集于 2012 年小麦收割后, 采取五点取样法采集土壤, 有机质 12.5 g/kg, 全氮 1.18 g/kg, 碱解氮 80.2 mg/kg, 有效磷 15.4 mg/kg, 速效钾 100.3 mg/kg, pH 6.32。种植制度为小麦-玉米一年两熟轮作制度, 小麦品种为“烟农 19”, 玉米品种为“郑单 958”。

**1.1.2 培养基** LB 培养基、无机盐培养基、液体发酵培养基、富集培养基和羧甲基纤维素培养基按照程鹏等<sup>[16]</sup>、陈俊梅等<sup>[17]</sup>的方法配制。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 土壤理化性质的测定** 土壤碱解氮、有效磷和速效钾指标的测定方法参考《土壤农化分析》<sup>[18]</sup>。

**1.2.2 菌株的分离与筛选** 称取 10 g 新鲜土样于 250 mL 锥形瓶 (装有玻璃珠和 90 mL 无菌水), 置于摇床 (120 r/min、30℃) 振荡 30 min, 取上清液进行梯度稀释, 涂布于 LB 琼脂平板, 在 30℃ 恒温培养箱中培养直至长出菌落, 选择单菌落划线纯化。将分离纯化的菌株接种于羧甲基纤维素钠选择培养基上培养, 观察菌落透明圈的大小, 定性筛选具有产羧甲基纤维素酶活 (CMC) 能力的菌株; 产吡啶乙酸 (IAA) 能力的定性测定参照 Libbert 和 Manterffel<sup>[19]</sup>的方法。

**1.2.3 羧甲基纤维素酶活 (CMC) 和吡啶乙酸 (IAA) 含量测定** 所分离菌株的 CMC 酶活性采用 DNS 法<sup>[20]</sup>测定, 酶活单位按国际单位定义; 产物 IAA 含量的测定采用 Salkowski 方法<sup>[21]</sup>。

**1.2.4 菌株的生理生化和 16S rDNA 分子学鉴定** 菌株的形态和生理生化特性参照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[22]</sup>和《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[23]</sup>的相关描述进行鉴定, 并对菌株进行电镜扫描观察。细菌基因的提取及 16S rRNA 扩增测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成, 将测序得到的菌株序列在 NCBI 数据库进行 BLAST 序列比对分析, 使用 MEGA11.0 软件的 Neighbour-Joining 法构建系统发育树, 以此来鉴定菌株的种属。

**1.2.5 菌株秸秆促腐和作物促生能力研究** 秸秆

促腐能力测定: 试验设置 2 个处理, 接菌处理(X2, 三角瓶中接种 10 mL 浓度为  $1 \times 10^8$  cfu/mL 菌液)和对照处理(CK, 三角瓶中接种 10 mL 无菌水)。将小麦秸秆粉碎研磨后过 20 目筛, 称取 5 g 于 250 mL 三角瓶中, 依次加入 30 mL 无菌水、2 g 硝酸钠以及 10 mL 菌液恒温振荡(28 °C、120 r/min)。培养 15 d 后, 将发酵产物从三角瓶中倒出, 用无菌水反复冲洗多次, 80 °C 烘干至恒重。秸秆相对腐解率(%)=( $W_0 - W_1$ )/ $W_0 \times 100$ , 其中,  $W_0$  为发酵前秸秆物质量,  $W_1$  为发酵后秸秆物质量<sup>[16]</sup>。

植株促生能力测定: 采集田间 0~20 cm 土层的新鲜砂姜黑土, 过 5 mm 孔径筛, 每盆装 5 kg 土, 调节含水量至田间持水量的 60%; 玉米种子用 0.1% 的 HgCl<sub>2</sub> 表面灭菌 10 min, 无菌水冲洗多次, 每盆播种 5 粒种子; 取浓度为  $1 \times 10^8$  cfu/mL 的菌悬液 10 mL 接种于土壤, 对照土壤喷洒经过灭菌处理的菌悬液(等量菌株 121 °C、30 min 高温高压灭菌即得灭活菌株), 每个处理重复 3 次。自然条件下生长 49 d 后采样, 测定玉米 SPAD(Soil and Plant Analyzer Development)值、根长、株高、地上部干物质量、地下部干物质量以及土壤理化性质<sup>[24]</sup>。

**1.2.6 菌株的最佳生长、产酶和产 IAA 条件研究** 保持培养基其他成分不变, 碳源为小麦秸秆粉, 选取初始 pH、装液量和氮源 3 个因素, 进行单因素优化。

设置初始 pH 为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 和 10.0, 250 mL 三角瓶中培养液装液量分别 25、50、75、100 和 150 mL, 氮源为硝酸钾、硫酸铵、硝酸铵、酵母粉、谷氨酸、尿素和蛋白胨, 培养 60 h 后测定菌株产 CMC 酶的含量<sup>[25]</sup>。

设置相同初始 pH、装液量和氮源, 配置 50 mL LB 液体培养基(含 100 mg/L L-色氨酸)于 250 mL 三角瓶中, 按照 1%(V/V)量进行菌株接种, 于摇床(30 °C、180 r/min)培养 24 h 后测定菌株生长情况(OD<sub>600</sub>)和产 IAA 能力。

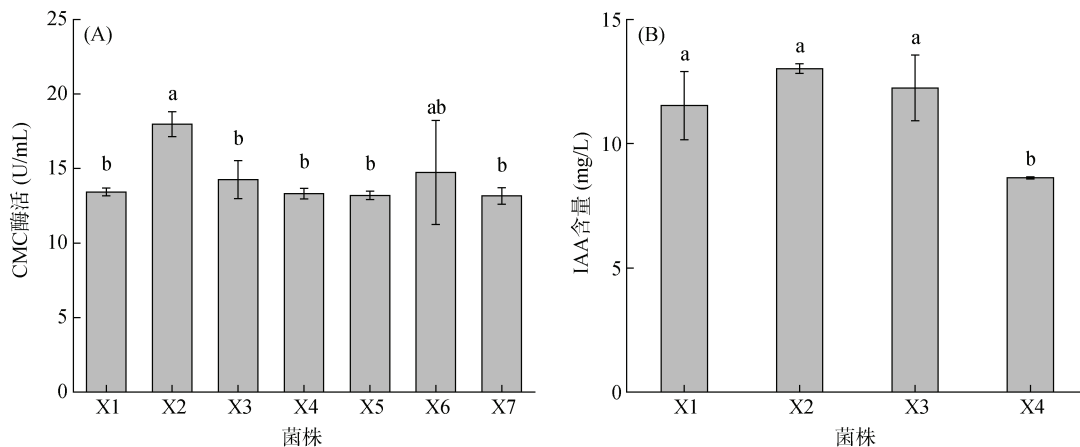
### 1.3 数据处理

采用 Excel 2016 对数据进行预处理, 使用 SPSS 21.0 进行统计分析, 采用最小显著性差异法(LSD 检验)进行数据的方差分析, 显著水平 0.05; 用 Origin 2023 进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同供试菌株 CMC 酶活和 IAA 生产能力比较

羧甲基纤维素钠选择培养基筛得 7 株纤维素降解菌 X1~X7(图 1), 其中菌株 X2 产生的 CMC 酶活最高, 可达 18.0 U/mL, 显著高于其他菌株(图 1A)。经过产 IAA 的定性筛选, 共有 4 株产 IAA 菌株, 分别为 X1、X2、X4 和 X5, 定量测定结果显示 X2 产 IAA 能力最高为 13.0 mg/L(图 1B)。



(图中小写字母不同表示菌株间差异显著( $P < 0.05$ ))

图 1 不同菌株产 CMC 酶(A)和产 IAA 能力(B)

Fig. 1 CMC enzyme activities (A) and IAA syntheses (B) of different strains

### 2.2 供试菌株 X2 的形态、生理生化及遗传性状

根据 LB 平板划线显示, 观察到 X2 菌株表面光滑, 边缘整齐, 颜色略带黄色, 质地均匀(图 2A); 通过电镜观察, 菌株呈稍弯曲或弧状的棒状(图 2B)。菌株 X2 的生理生化指标见表 1, X2 为好氧性菌株, 除了柠檬酸盐利用为阳性, 其余反应皆为阴性。扩增菌

株 X2 的 16S rDNA 序列, 并进行 BLAST 比对, 结果(图 3)表明, X2 菌株与普沙根瘤菌(*Rhizobium pusense*)的亲缘关系最近, Blast 比对相似度达 99.64%。综合形态学观察、生理生化特征结果以及分子鉴定结果, X2 菌株被鉴定为普沙根瘤菌(中国普通微生物菌种保藏管理中心专利保藏编号: CGMCC No.20912)。

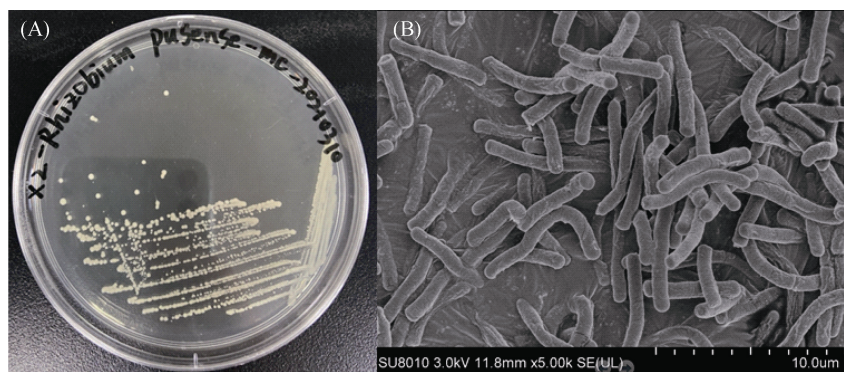


图 2 菌株 X2 的菌落形态观察(A)和电镜观察(B)

Fig. 2 Observations of colony (A) and electron microscopy (B) of X2 strain

表 1 菌株 X2 的生理生化特征

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of X2 strain

项目	结果
明胶水解	-
V-P 反应	-
M.R 反应	-
接触酶	-
柠檬酸盐利用	+
淀粉水解	-
好氧性试验	好氧
革兰氏染色	-

注：+表示阳性反应，-表示阴性反应。

### 2.3 菌株 X2 的秸秆促腐和植物促生能力

秸秆降解试验表明，在 15 d 时，接种 X2 处理的小麦秸秆降解率为 16.1%，与对照相比提高了 65.4% ( $P < 0.05$ , 表 2); 盆栽试验表明，玉米植株的平均直径、根表面积和地上部干物质量在接种菌株后都显著增加，较对照分别增加 22.0%、28.6% 和 33.3% ( $P < 0.05$ , 表 2)，植株生长状况显著优于对照；接种菌株后盆栽土壤中养分的变化如表 2 所示，与对照相比，土壤中碱解氮、有效磷和速效钾含量均有提高，其中土壤中碱解氮含量显著提高了 72.7% ( $P < 0.05$ , 表 2)。

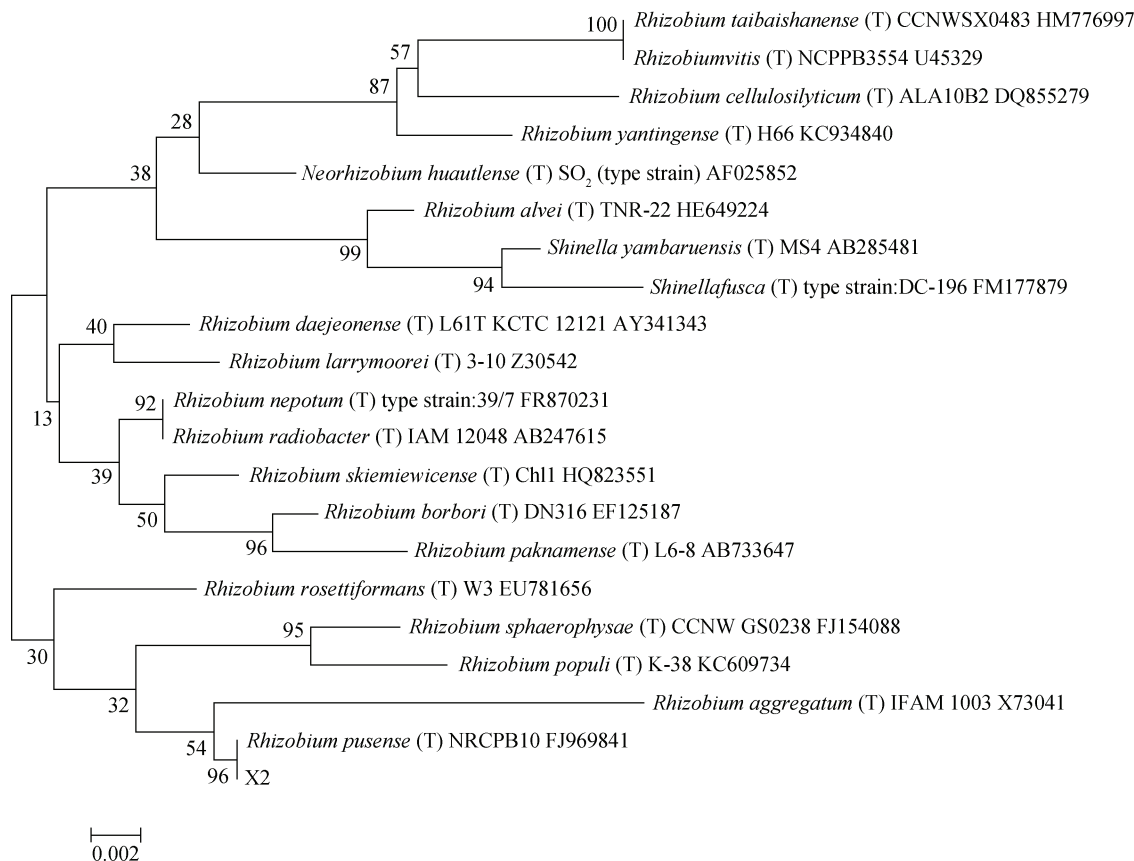


图 3 基于 X2 和相关菌株的 16S rDNA 序列采用邻接法建立的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of X2 and related strains based on 16S rDNA sequences by adjacency method

表 2 接种菌株 X2 对秸秆促腐、玉米生长和土壤理化性质的影响  
Table 2 Effects of inoculation X2 strain on straw decomposition, maize growth and soil physiochemical properties

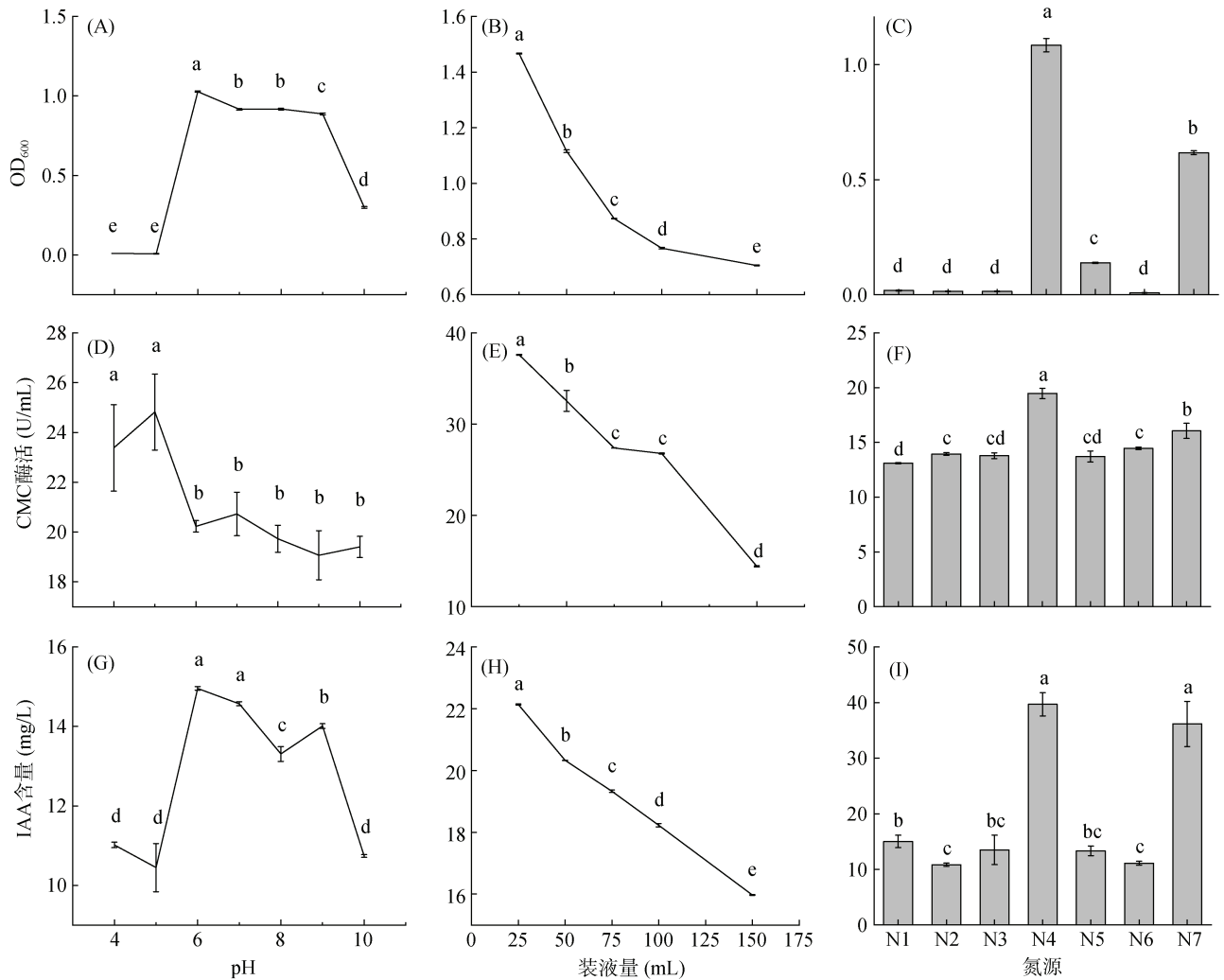
处理	秸秆降解率 (%)	玉米生长状况					土壤理化性质(mg/kg)			
		SPAD 值	平均直径 (mm)	根长 (cm)	根表面积 (cm <sup>2</sup> )	株高 (cm)	地上部干物质量(g)	碱解氮	有效磷	速效钾
CK	9.76 ± 0.90 b	40.2 ± 1.62	0.41 ± 0.04 b	23.5 ± 2.29	111.5 ± 23.0 b	51.8 ± 1.25	0.12 ± 0.01 B	19.56 ± 4.11 b	21.52 ± 0.55	123.00 ± 2.36
X2	16.1 ± 3.74 a	39.8 ± 1.06	0.50 ± 0.05 a	22.8 ± 1.44	143.5 ± 10.7 a	54.8 ± 3.09	0.16 ± 0.01 A	33.78 ± 7.11 a	23.83 ± 0.83	125.00 ± 0.00

注：同列数据小写字母不同表示差异达  $P < 0.05$  显著水平，大写字母不同表示差异达  $P < 0.01$  显著水平。

## 2.4 菌株 X2 的最佳生长、产 CMC 酶和产 IAA 条件

X2 菌株在 pH 为 6 ~ 9 时，生长良好，过酸过碱都不利于菌株生长。当 pH 为 6.0 时，菌株生长

量最大(图 4A)。三角瓶装液量为 25 mL/250 mL 时，菌株 X2 生长状况最优，菌株生长量与装液量呈负相关关系(图 4B)。在不同氮源条件下，该菌株利用有机氮源酵母粉效果最好，蛋白胨其次(图 4C)。



(图中小写字母不同表示不同培养条件下差异达  $P < 0.05$  显著水平；N1 ~ N7：硝酸钾、硫酸铵、硝酸铵、酵母粉、谷氨酸、尿素、蛋白胨)

图 4 不同培养条件对菌株 X2 生长状况、产 CMC 酶活力和 IAA 能力的影响

Fig. 4 Effects of different culture conditions on growth status, CMCase activity and IAA capacity of X2 strain

设置不同的 pH 条件测定 X2 菌株产 CMC 酶活力。如图 4D 所示，在偏酸条件下，X2 菌株产 CMC 酶活能力较强，当 pH 为 5.0 时，菌株的产酶能力最强为 24.8 U/mL；碱性条件下，产 CMC 酶活能力

较差。当三角瓶装液量为 25 mL/250 mL 时，CMC 酶活最高，为 37.6 U/mL，菌株产 CMC 酶活力与装液量呈负相关关系(图 4E)。当氮源为酵母粉时，此时 CMC 酶活最高，为 19.5 U/mL(图 4F)。

X2 菌株产 IAA 的最适 pH 与最佳生长 pH 一致, 不同条件下, 菌株活性变化趋势也一致; 当 pH 为 6.0 时, IAA 分泌量可达 15.0 mg/L(图 4G)。装液量为 25 mL 时产 IAA 能力显著高于其他处理( $P < 0.05$ ), 可达 22.1 mg/L(图 4H)。在供试的 7 种氮源中, X2 菌株利用酵母粉分泌 IAA 量最佳, 可达 39.7 mg/L(图 4I)。

### 3 讨论

#### 3.1 菌株 X2 产 CMC 酶和产 IAA 能力

国内外对微生物分泌多种酶系进而降解秸秆的研究已有较多报道, 细菌因其可以快速繁殖生长而备受关注。Li 等<sup>[26]</sup>从固体垃圾填埋场中筛选出一株可以降解有机固体废物纤维素细菌 FLX-7, 通过优化发酵条件后 CMC 活性为 11.94 U/mL; 钟斌等<sup>[27]</sup>从沼渣堆肥中分离出纤维素降解菌 F3 的 CMC 酶活性为 2.73 U/mL。对比分析下 X2 产 CMC 的能力较强。此外, 近些年来已有研究报道称 *Rhizobium pusense* 具有产 IAA、增溶磷酸盐、固氮、形成 ACC 脱氨酶和铁载体等必要的植物生长促进性状<sup>[28]</sup>。唐嘉城等<sup>[29]</sup>从百香果植株的根系分离出 *Rhizobium pusense* 细菌 BXG81 的 IAA 分泌量为 7.55 mg/L; Chaudhary 等<sup>[28]</sup>从植物根部分离出 *Rhizobium pusense* MB-17 的 IAA 分泌量为 15.5  $\mu\text{g/mL}$ , 而本研究所筛选的菌株 IAA 分泌量为 13.0 mg/L, 可能是菌种差异以及土壤环境条件不同导致 IAA 分泌量有所不同。

#### 3.2 菌株 X2 秸秆促腐和作物促生能力

微生物腐解秸秆是一个连续的过程, 采用菌株的瞬时酶活力去评估其降解能力存在一定的局限性<sup>[30]</sup>。为了验证菌株的实际降解能力, 本研究进行了液态发酵试验。结果表明, 在 15 d 时, 接种 X2 菌株处理的小麦秸秆腐解率为 16.1%。目前, 已有文献报道了从砂姜黑土中筛选出菌株玉米固氮螺菌和纤维化纤维微细菌, 但这些菌株在相同时间内对小麦秸秆的腐解率为 15.1% 和 12.2%<sup>[24, 31]</sup>, 相较之下 X2 菌株具有一定优势。根瘤菌作为植物促生菌可以促进多种植物生长(包括非豆科植物)<sup>[32]</sup>。Nguyen 等<sup>[33]</sup>研究发现接种 *Rhizobium pusense* 对油菜和白萝卜的生长具有显著的影响, 还能抑制病原菌在水稻根际生长。本研究筛得菌株可以促进玉米根表面积和地上部干物质量的结果与此一致。此外该菌株还能改善砂姜黑土缺磷少氮的养分含量特性, 相对于对照, 提高了土壤 72.7% 的速效氮含量, 这有助于宿主植株从土壤中吸收更多的营养物质<sup>[34]</sup>。

#### 3.3 菌株 X2 的生产和应用优化

菌株在实际应用过程中受到环境条件等因素的制约, 其功能发挥的稳定性与室内试验不一定一致<sup>[35]</sup>。根据菌株特性优化其培养条件, 匹配适宜的环境, 对微生物的生长及特定性能的发挥应用至关重要<sup>[36]</sup>。本试验对菌株 X2 生长、产 CMC 以及 IAA 的最优条件进行分析, 研究发现 X2 在 pH 为 6.0、250 mL 三角瓶装液量为 25 mL、氮源为酵母粉条件下生长和产 IAA 能力最优, 产酶的最佳 pH 发生变化为 5.0。在不同培养条件下, X2 菌株生长量和 IAA 分泌量的变化趋势一致, 说明 pH 可能主要通过影响菌株的生长进而影响 IAA 分泌量。在 pH 分别为 5.0、6.0 时产 CMC、IAA 能力和生长活性最佳, 这一结果表明 X2 具有耐酸性, 与已局部酸化的砂姜黑土相适配。值得注意的是, 当 pH > 5.0 时, 该菌株产 CMC 能力显著下降, 这可能是因为随着初始 pH 升高, 菌株的生长量增加, 会使菌株积累其他代谢产物, 从而抑制纤维素酶的产生<sup>[37]</sup>。X2 生长、产酶和产 IAA 的最佳装液量为 25 mL/250 mL, 菌株活性与装液量呈负相关关系。一方面, X2 为好氧菌, 氧气含量的减少导致菌体生长和代谢减缓, 从而导致分泌 IAA 和 CMC 酶活的能力下降; 另一方面, 过高的装液量可能引入更多的代谢废物, 对菌株活性产生抑制作用<sup>[38]</sup>。有机氮源酵母粉具有蛋白质含量丰富、矿物质种类丰富的特点<sup>[39]</sup>。在本研究中菌株生长、产酶和产 IAA 的最佳氮源均为有机氮源酵母粉, 当使用无机氮源时, 菌株 X2 生长状况不佳, IAA 产量也较低, 说明菌株 X2 利用有机氮源的能力优于无机氮源。这与刘延波等<sup>[40]</sup>筛选的特基拉芽孢杆菌以及刘璐等<sup>[41]</sup>筛选的芽孢杆菌属在酵母粉为唯一氮源时, 分别产酶能力最佳、IAA 分泌量最高结果相一致。综上, 菌株 X2 适用于施用有机氮源、通气性好的偏酸性土壤中。

### 4 结论

本研究成功从安徽淮北砂姜黑土农田中分离筛选一株具有促生功能的秸秆降解菌株普沙根瘤菌 X2(*Rhizobium pusense*), 并探明其最佳生长条件 pH 为 6.0, 装液量 25 mL/250 mL, 氮源为酵母粉; 其最佳产酶和 IAA 条件 pH 为 5.0~6.0, 最佳装液量、氮源与生长条件一致。同时, 通过盆栽试验发现, 该菌株对促进砂姜黑土地区作物生长和土壤养分具有积极的意义。本研究后续也将进一步研究如何有机复配具有不同功能的微生物, 使其协同增效为砂姜黑土地区提供优异的微生物菌群。

## 参考文献:

- [1] 牛新胜, 巨晓棠. 我国有机肥料资源及利用[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(6): 1462–1479.
- [2] 高静, 朱捷, 黄益国, 等. 农作物秸秆还田研究进展[J]. 作物研究, 2019, 33(6): 597–602.
- [3] Dai X L, Zhou W, Liu G R, et al. Soil C/N and pH together as a comprehensive indicator for evaluating the effects of organic substitution management in subtropical paddy fields after application of high-quality amendments[J]. *Geoderma*, 2019, 337: 1116–1125.
- [4] 官秀杰, 钱春荣, 于洋, 等. 近年纤维素降解菌株筛选研究进展[J]. 纤维素科学与技术, 2021, 29(2): 68–77.
- [5] 齐永志, 赵斌, 李海燕, 等. 多功能菌 B1514 在小麦根际的定殖及对纹枯病的防治作用[J]. 植物保护学报, 2014, 41(3): 320–326.
- [6] 吴晓华, 张晓坤, 曲玉森, 等. 多功能地衣真菌的筛选及其复合菌剂的研制[J]. 中国土壤与肥料, 2021(1): 289–295.
- [7] 杨明, 袁悦, 李宪臻, 等. 不同环境中纤维素降解菌群多样性差异分析[J]. 江西农业大学学报, 2020, 42(1): 174–186.
- [8] 何楠, 令利军, 冯蕾, 等. 1 株产纤维素酶细菌的筛选、鉴定及生长特性[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(1): 43–49.
- [9] Srivastava N, Srivastava M, Mishra P K, et al. Applications of fungal cellulases in biofuel production: Advances and limitations[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2018, 82: 2379–2386.
- [10] 马欣雨, 孙丽娜, 卢珊, 等. 秸秆降解菌的筛选及对秸秆的降解效果[J]. 生态学杂志, 2020, 39(4): 1198–1205.
- [11] 王擎运, 杨远照, 徐明岗, 等. 长期秸秆还田对砂姜黑土矿质复合态有机质稳定性的影响[J]. 土壤学报, 2019, 56(5): 1108–1117.
- [12] 王擎运, 陈景, 杨远照, 等. 长期秸秆还田对典型砂姜黑土胀缩特性的影响机制[J]. 农业工程学报, 2019, 35(14): 119–124.
- [13] 张学林, 吴梅, 何堂庆, 等. 秸秆分解对两种类型土壤无机氮和氧化亚氮排放的影响[J]. 中国农业科学, 2022, 55(4): 729–742.
- [14] 李少昆, 王克如, 冯聚凯, 等. 玉米秸秆还田与不同耕作方式下影响小麦出苗的因素[J]. 作物学报, 2006, 32(3): 463–465, 478.
- [15] 李培根, 要雅倩, 宋吉祥, 等. 马铃薯根际产 IAA 芽孢杆菌的分离鉴定及促生效果研究[J]. 生物技术通报, 2020, 36(9): 109–116.
- [16] 程鹏, 刘姗姗, 王玉, 等. 1 株高产纤维素酶菌株的筛选鉴定及对稻秆降解的研究[J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(1): 84–91.
- [17] 陈俊梅, 李文鹏, 赵素雅, 等. 蠅螬肠道中碱性内切葡聚糖酶基因的克隆表达及功能分析[J]. 微生物学报, 2019, 59(9): 1798–1812.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] Libbert E, Manteuffel R. Interactions between plants and epiphytic bacteria regarding their auxin metabolism. VII. the influence of the epiphytic bacteria on the amount of diffusible auxin from corn coleoptiles[J]. *Physiologia Plantarum*, 1970, 23(1): 93–98.
- [20] 陈晶晶, 王伏伟, 刘曼, 等. 土壤中纤维素降解真菌的筛选及其纤维素酶活性的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2014, 41(4): 654–661.
- [21] 刘晔, 刘晓丹, 张林利, 等. 花生根际多功能高效促生菌的筛选鉴定及其效应研究[J]. 生物技术通报, 2017, 33(10): 125–134.
- [22] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [23] 布坎南(Buchanan R E)等编. 中国科学院微生物研究所译. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984.
- [24] 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.
- [25] 张东艳, 刘晔, 吴越, 等. 花生根际产 IAA 菌的筛选鉴定及其效应研究[J]. 中国油料作物学报, 2016, 38(1): 104–110.
- [26] Li D P, Feng L, Liu K R, et al. Optimization of cold-active CMCase production by psychrotrophic *Sphingomonas* sp. FLX-7 from the cold region of China[J]. *Cellulose*, 2016, 23(2): 1335–1347.
- [27] 钟斌, 陶文玲, 倪思毅, 等. 一株纤维素降解菌的筛选、鉴定及产酶条件优化[J]. 江西农业大学学报, 2021, 43(5): 1167–1177.
- [28] Chaudhary T, Gera R, Shukla P. Deciphering the potential of *Rhizobium pusense* MB-17a, a plant growth-promoting root endophyte, and functional annotation of the genes involved in the metabolic pathway[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 8: 617034.
- [29] 唐嘉城, 梁毅珉, 马葭思, 等. 百香果内生细菌多样性及促生长特性[J]. 生物技术通报, 2022, 38(1): 86–97.
- [30] 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.
- [31] 强震宇, 朱林, 朱媛媛, 等. 一株兼具秸秆腐解能力玉米促生菌的筛选、鉴定及发酵优化[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 526–540.
- [32] Antoun H, Beauchamp C J, Goussard N, et al. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.)[J]. *Plant and Soil*, 1998, 204(1): 57–67.
- [33] Nguyen P M, Nguyen H T, Le H T T, et al. The effects of *Rhizobium* inoculation on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) and white radish (*Raphanus sativus* L.)[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2022, 995(1): 012053.
- [34] de Souza R, Beneduzi A, Ambrosini A, et al. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in southern Brazilian fields[J]. *Plant and Soil*, 2013, 366(1): 585–603.

- [35] Lucy M, Reed E, Glick B R. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2004, 86(1): 1–25.
- [36] 张必周, 青格尔, 高聚林, 等. 低温复配菌系对玉米秸秆的降解特性及稳定性[J]. *生态学杂志*, 2022, 41(3): 487–494.
- [37] 党佳佳, 白洁, 赵阳国, 等. 河口区芦苇湿地一株耐盐纤维素降解菌的筛选鉴定[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2017, 47(S1): 11–19.
- [38] Shu G W, Yang H, Chen H, et al. Effect of incubation time, inoculum size, temperature, pasteurization time, goat milk powder and whey powder on ACE inhibitory activity in fermented milk by *L. plantarum* LP69[J]. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 2015, 14(2): 107–116.
- [39] Feng J, Feng N, Zhang J S, et al. A new temperature control shifting strategy for enhanced triterpene production by *Ganoderma lucidum* G0119 based on submerged liquid fermentation[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2016, 180(4): 740–752.
- [40] 刘延波, 刘洋洋, 赵志军, 等. 赊店老酒酒醅中高产纤维素酶菌种的分离鉴定及产酶条件优化[J]. *中国酿造*, 2021, 40(2): 122–127.
- [41] 刘璐, 唐文竹, 李宪臻. 一株产吡啶乙酸菌的筛选、鉴定与优化[J]. *大连工业大学学报*, 2019, 38(4): 239–243.