

李明星,江 慧,李锐定,等.功能菌剂偶联有机肥强化秸秆还田 [J]. 中国环境科学, 2025,45(2):870-881.

Li M X, Jiang H, Li R D, et al. Strengthening straw returning by coupling functional microbial agents with organic fertilizers [J]. China Environmental Science, 2025,45(2):870-881.

功能菌剂偶联有机肥强化秸秆还田

李明星^{1,2},江 慧¹,李锐定¹,陶逸倩^{1,3},李 星¹,邱忠平^{1*} (1.西南交通大学生命科学与工程学院,四川 成都 610031; 2.西南交通大学材料科学与工程学院,四川 成都 610031; 3.四川省环境科学研究院,四川 成都 610041)

摘要: 设置添加秸秆降解菌剂(MC)、有机肥(OF)、菌肥联用(MC+OF)和空白对照(CK) 4 个处理,进行了为期 120d 的还田实验,分析不同处理对还田秸秆降解速度、土壤理化性质及土壤微生态的影响.结果表明,MC+OF 处理的秸秆降解和腐殖化效果最佳.还田 120d 时,MC+OF 组半纤维、纤维素、木质素降解率和秸秆失重率分别较其他处理高 2.87%~11.78%、3.20%~10.59%、6.00%~32.97%和 9.49%~26.77%($P<0.05$),腐殖质含量最高,达 70.39g/kg; 土壤总有机碳和溶解性有机碳分别较初始增加 33.39%和 62.00%,土壤总养分(氮磷钾)相对初始增加 134.21mg/kg.此外,秸秆降解菌剂接种后其中的 *Aspergillus* 能够在秸秆还田过程中成为优势菌属,并诱导了 *Alcaligenes*、*Ensifer* 和 *Brevundimonas* 等具有木质纤维素降解功能的土著微生物显著富集; 菌肥联用还提高土壤中蔗糖酶、脲酶和中性磷酸酶等碳、氮和磷转化的关键酶活力,降低了病原营养型真菌总量,提升了土壤品质.综上所述,MC+OF 是解决还田秸秆降解难、资源循环受阻的有效手段,对降低环境污染风险和实现生态环境可持续发展具有重要意义.

关键词: 秸秆还田; 秸秆降解菌剂; 有机肥; 土壤养分; 土壤微生态

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)02-0870-12

Strengthening straw returning by coupling functional microbial agents with organic fertilizers. LI Ming-xing^{1,2}, JIANG Hui¹, LI Rui-ding¹, TAO Yi-qian^{1,3}, LI Xing¹, QIU Zhong-ping^{1*} (1.School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China; 2.School of Materials Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China; 3.Sichuan Academy of Environmental Sciences, Chengdu 610041, China). *China Environmental Science*, 2025,45(2): 870-881

Abstract: This study established 4 treatments, straw degradation microbial agent (MC), organic fertilizer (OF), MC+OF, and control check (CK), and conducted a 120 days straw returning experiment to analyze the impact of different treatments on straw decomposition rate, soil nutrients, and soil microecology. The results demonstrated that the MC+OF treatment significantly improved the straw returning rate, especially enhanced the lignin degradation of stubborn components in the straw. After 120 days, the MC+OF group showed significantly higher rates of hemicellulose, cellulose, lignin degradation, and straw weight loss compared with other treatments, with increases ranging from 2.87% to 11.78%, 3.20% to 10.59%, 6.00% to 32.97%, and 9.49% to 26.77% respectively ($P<0.05$). The total amount of humus reached 70.39g/kg, a 24.87% increase compared with the CK; additionally, soil organic carbon and dissolved organic carbon increased by 33.39% and 62.00%, respectively, from their initial levels, while soil total nutrients (nitrogen, phosphorus, potassium) increased relatively by 134.21mg/kg. The combination of microbial and organic fertilizers also enhanced the activity of invertase, urease, and neutral phosphatase in the soil. Moreover, microorganisms such as *Aspergillus* in the MC treatment became dominant genera during the straw returning process, induced a significant enrichment of indigenous microorganisms with lignocellulose degradation functions like *Alcaligenes*, *Ensifer*, and *Brevundimonas*. The combination of microbial and organic fertilizers decreased the total amount of pathogenic saprophytic fungi in the soil and improved soil quality. These results indicate the immense potential of MC+OF in accelerating the recycling and utilization of straw resources.

Key words: straw return; straw degradation microbial agent; organic fertilizer; soil nutrients; soil microecology

秸秆是农业生产过程中主要的副产物,也是一种重要的生物质资源,目前我国秸秆年产量已超 10 亿 t^[1]. 秸秆再利用方式包括肥料化、饲料化和基料化等,其中,以还田为主的肥料化是秸秆资源循环利用的有效手段.秸秆还田具有减少土壤侵蚀、改善土壤微生物群落结构,提高土壤酶活、增强耕地抗逆能力、提升地力等优势^[2],是实现农业绿色发展的重要

举措.据 2021 年中国秸秆资源台账统计,全国秸秆还田在可收集秸秆的资源化利用中占比达 54.70%,已成为秸秆利用的最主要方式^[3].但是,自然条件下直

收稿日期: 2024-07-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51978576);四川省重点研发项目(2023YFSY0011,2023ZHC0058);中国烟草总公司四川省烟草公司科技项目(SCYC202109,SCYC202409)

* 责任作者, 教授, zhpqiu@home.swjtu.edu.cn

接还田的秸秆降解缓慢,未及时降解的秸秆在耕层中累积,导致病虫害滋生,养分循环阻碍并严重影响下茬作物种植和生长.因此,加速秸秆降解是秸秆还田培肥土壤及其资源化利用的关键^[4].

还田秸秆在土壤微生物和多种环境因子作用下解聚,产生的可溶性糖、有机酸等小分子有机物继续被微生物代谢为 CO_2 ^[5].同时,秸秆中的木质素可在微生物分泌的漆酶、过氧化物酶等酶系协同作用下经支链裂解、侧链氧化、取代反应形成多酚,并进一步修饰转化为醌基化合物,醌经自聚合或结合土壤中游离的多糖、氮类化合物等缩合产生腐殖质^[6],因此,加速秸秆降解对土壤中腐殖质的形成具有重要作用.秸秆降解速度受土壤中微生物功能、活性及多种功能酶等生物因素,以及土壤氮含量、pH 值、C/N、温度等非生物因素的影响^[4,7].

土壤微生物功能多样性和活性是影响秸秆降解关键的生物因素^[4].秸秆降解是由微生物主导的酶促反应过程,其中半纤维素、纤维素和木质素 3 种秸秆主要组分所需的功能微生物和水解氧化酶不同^[6],而单一菌株通常难以完成如此复杂的过程^[8].因此,秸秆降解往往需要细菌、真菌等多种微生物及其分泌的木质纤维素降解酶系的协同作用.此外,秸秆降解过程中产生大量酚酸等具有生物毒性的中间代谢产物,对微生物降解秸秆产生反馈抑制,影响微生物活性,导致秸秆生物降解缓慢^[4,9].接种微生物菌剂,通过提高功能微生物丰度和代谢活性,加速秸秆降解,同时可强化中间代谢产物的降解转化,降低对土壤微生物和下茬作物的抑制作用.因此,外源微生物接种是解决直接还田存在秸秆降解不彻底,提高秸秆资源循环利用的有效、安全且经济的方法^[8].

土壤中 C/N 是影响秸秆降解的主要非生物因素.由于秸秆 C/N 值较高(65~85:1),单一还田易导致土壤 C/N 失衡,加剧微生物间以及微生物与植物间的氮竞争^[10].同时,单一秸秆还田难以满足作物生长的养分需求,对作物增产效果不明显,因此,秸秆还田通常需要添加额外的氮源^[11].研究表明,秸秆还田配施无机氮肥可显著促进秸秆分解,提高土壤氮的可利用性,减轻氮对土壤微生物的限制^[4].但无机氮肥往往肥效期短,难以满足秸秆分解对氮的长时间需求^[11],且氮肥过量会抑制土壤中木质纤维素降解酶的活性和稳定性^[12].有机肥中氮源丰富,且具有大量

的活性微生物与磷、钾、钙等有益成分,是较无机肥更温和且肥效更持久的肥料^[11,13],有机肥的施用因具有改善土壤结构,提高土壤微生物活性,提升降解木质素等顽固成分的微生物丰度,抑制农田土壤病害传播等优点被广泛关注^[7,14].

综上所述,利用功能微生物耦合有机肥具有提高微生物活性、促进秸秆降解和降低氮竞争的优势,但目前关于两者协同促进秸秆还田过程中土壤理化指标和生物学指标的变化影响仍缺乏深入研究.为此,本研究在秸秆还田过程中接种针对秸秆降解的微生物菌剂并配施有机肥,解析两者协同对秸秆还田效率、土壤微生物群落结构及功能和土壤品质的影响.研究成果将为促进秸秆资源循环利用,降低环境污染风险和实现生态环境可持续发展等提供一定的技术支持.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验于 2024 年 3~5 月在四川省成都市青白江坪家村(104°20'8.43"E, 30°47'21.63"N,海拔 726m)开展,实验周期内平均气温 19.2℃,降雨总量 107.2mm.供试土壤为黄壤土,其初始 pH 值、电导率(EC)、碱解氮(AN)、速效磷(AP)、速效钾(AK)、总有机质(TOM)、土壤有机碳(SOC)和溶解性有机碳(DOC)分别为 6.33、0.15mS/cm、20.05mg/kg、4.55mg/kg、57.34mg/kg、3.70%、12.76g/kg 和 0.77g/kg.土壤初始脲酶(UR)、蔗糖酶(SUC)和中性磷酸酶(NP)分别为 0.24,1.99 和 0.26mg/(g·d).

秸秆降解菌剂是本实验室前期从堆肥、腐烂落叶、农田等地广泛筛选构建,主要由木质纤维素降解菌和有机质转化菌两类功能菌群组成.其中木质纤维素降解菌的筛选基于产木质纤维素降解酶和对秸秆的降解效果,有机质转化菌的筛选基于纤维多糖和酚酸的降解转化能力.经 16S rRNA 基因鉴定木质纤维素降解菌包括 *Aspergillus fumigatus* QX1、*Aspergillus versicolor* QX7、*Trichoderma harzianum* QX4、*Phanerochaete chrysosporium* QM5、*Auricularia reticulata* QM3,有机质转化菌包括 *Debaryomyces hansenii* QL1、*Meyerozyma guilliermondii* QZ16、*Bacillus subtilis* QL4、*Bacillus cereus* QL3、*Aneurinibacillus* QL5^[15].本研究中木质

纤维素降解菌主要用于解聚秸秆木质纤维素,释放纤维多糖、酚类和有机酸等小分子有机物,有机质转化菌则可快速利用小分子有机物,避免产物的负反馈效应,影响秸秆降解与转化.菌剂由各菌株等体积混合而成.供试有机肥由本实验室利用鸡粪秸秆经好氧发酵获得.

1.2 实验设计

本研究共设置了单一秸秆还田组(CK),秸秆降解菌剂组(MC),有机肥组(OF),秸秆降解菌剂和有机肥组(MC+OF)4个处理.根据文献秸秆降解菌剂接种量为秸秆干重的2%,有机肥用量为5,000kg/hm²,秸秆还田量6,000kg/hm²[16].还田秸秆尺寸在5~10cm,每种还田方式实验面积为50m².

为研究还田过程中秸秆微观结构变化、木质纤维素降解效果与腐殖化程度,采用尼龙袋法进行秸秆还田实验,取100g秸秆置于35cm×50cm的60目尼龙网袋中,埋入田间土壤表层下5~20cm处,共放置250个尼龙网袋.为研究各处理对土壤理化性质及生物学特性的影响,将25kg秸秆直接翻压还田.各处理进行为期120d的秸秆还田实验,期间每15d随机采集3个尼龙网袋中的秸秆样品,以及直接翻压还田处理的200g土样,土样混匀后分为2份,每份100g,一份自然风干过10目筛后用于分析常规理化指标,另一份湿样用于生物指标分析.

1.3 指标测定

1.3.1 理化指标分析 采用钨灯丝扫描电镜(SEM)(JSM 7800F Prime,日本),加速电压为10kV,所有样品均安装在导电胶带上,用溅射涂布机涂覆.取冷冻干燥样品2mg,与400mg干燥的KBr研磨混匀.取100mg的混合物在29.4MPa下压制1min,制作成透明薄片,采用傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)(Nicolet iS50,USA)在4000~400cm⁻¹波长范围内测定样本FTIR光谱.

半纤维素和纤维素采用二硝基水杨酸比色法测定,木质素含量和秸秆失重率采用差量法测定,腐殖质采用碱性焦磷酸钠提取重铬酸钾氧化法[17];土壤样品在去离子水中(土水比1:2.5)震荡1h后用玻璃电极(pHS-3C⁺,中国方舟科技)测量土壤pH值,用电导仪(DDS-307⁺中国方舟科技)测量土壤EC值.总有机质(TOM)由550℃的马弗炉测定[17];分别采用K₂SO₄浸提法、氧化还原滴定法测定DOC和SOC

含量[18];采用0.5mol/L NaHCO₃(pH8.5)提取,钼蓝比色法测定AP,分别采用碱解扩散法和醋酸铵提取火焰光度法测定AN和AK的含量[14];分别采用苯酚-次氯酸钠比色法、3,5-二硝基水杨酸比色法和磷酸苯二钠比色法测定了土壤SUC、UR和NP[19].

1.3.2 高通量测序 对秸秆还田不同阶段样品进行微生物群落结构分析.使用Power土壤DNA提取试剂盒(U.S.A. Mobio Laboratories Inc.),按照操作说明提取微生物DNA,并对提取的DNA进行纯化和质量检查.使用引物(338F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3',806R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')扩增细菌16S rRNA基因的V3-V4区域,利用引物(ITS1F:5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTA-A-3', ITS2R:5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')对真菌ITS rRNA的ITS1区进行扩增[15].文库检测通过Agilent 2100Bioanalyzer分析片段长度和浓度,合格的文库在美吉生物医药科技有限公司的Illumina MiSeq平台进行测序.使用Fastp(v0.19.6)对原始reads进行质量过滤,并使用FLASH(v1.2.11)将成对的reads拼接.通过UPARSE(v11)进行序列聚类,在97%的相似度下将非重复序列聚类成操作分类单元(OTU).在聚类过程中,利用UCHIME(v4.2.40)与Gold数据库比较并去除嵌合体,得到OTU的代表序列.使用RDP Classifier(v11.5)注释分析OTU代表序列,并利用QIIME(v1.9.1)对Greengenes(v135)数据库训练,通过USEARCH(v11)将所有序列映射回OTU,生成每个样本的OTU丰度统计表.

1.4 数据分析

数据统计采用Microsoft Excel 2019,采用SPSS 22.0软件进行差异分析, $P < 0.05$ 水平具有显著性差异.分别使用PICRUST2和FUNGuild数据库预测样本中细菌代谢途径与真菌营养模式.GraphPad Prism 9软件用于可视化分析.

2 结果与讨论

2.1 还田过程中秸秆的降解情况

2.1.1 秸秆结构的变化 如图1(a),秸秆初始外观呈现黄色,原始茎秆组织特征明显,还田90d后,各处理组秸秆颜色均加深,粒径变小.其中,MC+OF组粒径最小,颜色最深.秸秆的原始状态和处理90d后的横截面和外表面SEM情况如图1(b),秸秆原始横截

面呈中空管状,维管束结构明显.外表面典型的瘤状蜡质-硅化层(WSL)结构完整^[20].还田 90d 后,各处理组秸秆横截面和外表面发生皱缩,部分结构被破坏.其中,MC+OF 组秸秆横截面变形、扭曲强烈,维管束结构严重皱缩,WSL 基本被破坏,而 CK 组秸秆横截面皱缩程度和外表面 WSL 分解度最低.表明 MC 与 OF 协同通过增溶蜡质和去除二氧化硅促进微生物和酶的可及性,加速秸秆降解.

不同处理阶段秸秆的红外吸收光谱如图 1(c),还田 30d 时,1031 cm^{-1} (半纤维素或 C=O 的 C—O 拉伸)、898 cm^{-1} (无定形纤维素)吸收峰降低,表明半纤

维素和纤维素的降解;2840~2918 cm^{-1} 处存在较宽的峰,属于木质素侧链甲基和甲氧基 C—H 对称和不对称的振动^[21],还田 90d 后 MC+OF 组的该峰值明显低于其他处理.863 和 760 cm^{-1} (芳环相关的 C—H 键)、1650 cm^{-1} (木质素中 C=O)处的峰值减弱,表明芳香环的开环或取代,木质素也被降解^[22].3300~3500 cm^{-1} 处的谱带由 O—H(包括纤维素、半纤维素、多糖和酚类等)拉伸振动产生^[23],还田 30d 时,各处理差异不显著,还田 90d 后,观察到 MC、OF 和 MC+OF 组这些峰的强度减弱,表明木质素降解产物已经被分解,而 CK 组仍存在大量木质纤维素的降解产物累积.

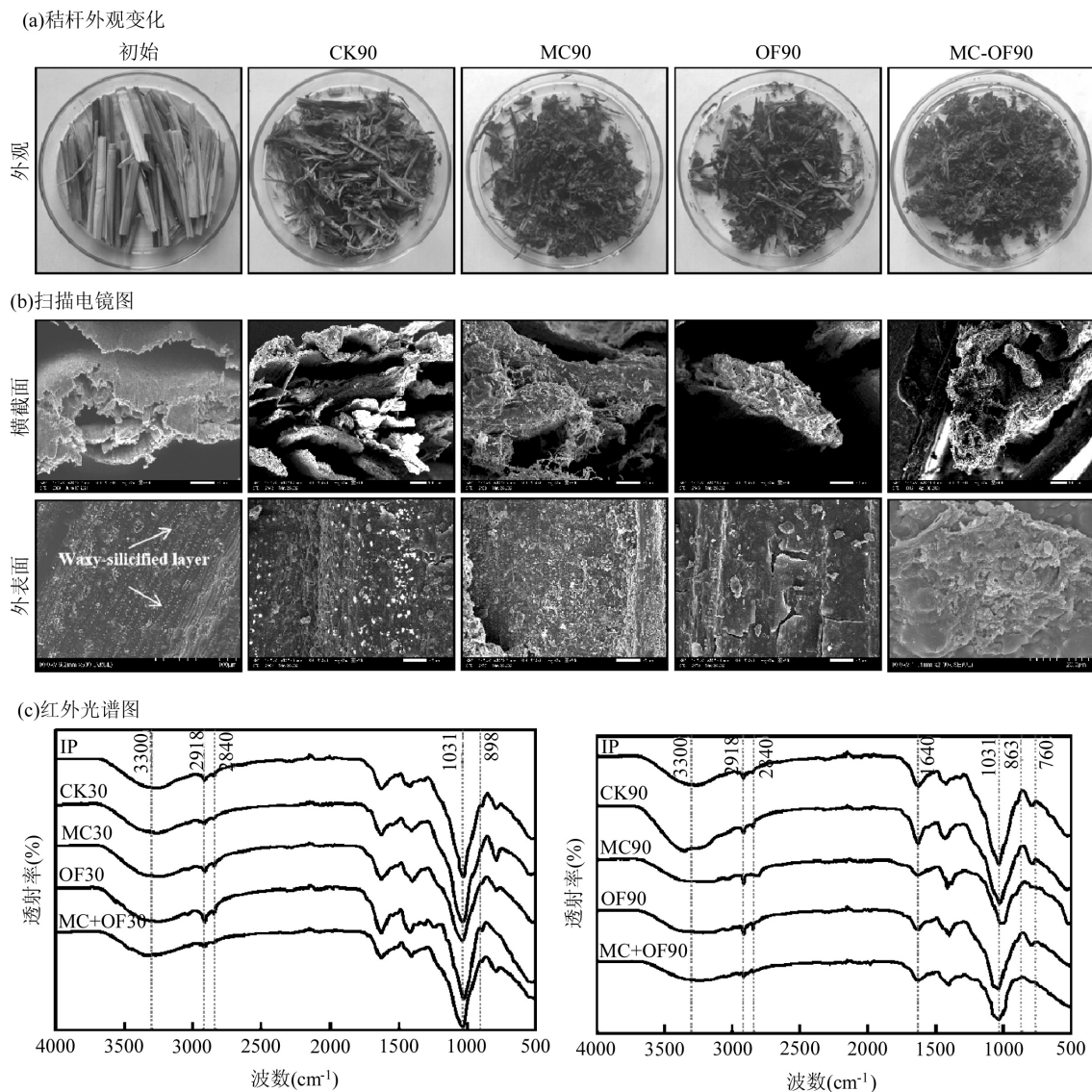


图 1 还田过程中各处理的秸秆结构变化及不同时期的红外光谱

Fig.1 Changes in the straw structure during returning and infrared spectra from different periods

2.1.2 秸秆组分的变化 还田过程中秸秆失重率、

木质纤维素降解率和还田结束时腐殖质含量变化

见图 2. 还田前 15d 秸秆降解速率最快, 各组秸秆失重率在还田 75d 左右基本稳定(图 2(a)). 至还田 120d 时, CK、MC、OF 和 MC+OF 组的秸秆失重率分别为 51.40%、63.53%、61.49% 和 70.19%. MC+OF 组秸秆失重率较其他组高 9.49%~26.77%, 差异显著 ($P < 0.05$), 表明接种 MC 和施用 OF 均促进了秸秆降解, 而 MC 协同 OF 对秸秆还田效果更优.

各处理半纤维素、纤维素和木质素降解速率呈现先快速增加后逐渐下降的趋势. 如图 2(b)~图 2(d) 所示, 由于 3 种成分结构组成的差异导致其降解速度不同^[6],

还田前 15d 半纤维素最快降解, 纤维素在还田前 30d 降解速率较大, 木质素的降解则主要在还田中后期 (60~90d). 至还田 120d 时, MC+OF 组半纤维、纤维素和木质素解率分别达 90.13%、95.36% 和 72.13%, 较其他处理分别高 2.87%~11.78%、3.20%~10.59% 和 6.00%~32.97%. 表明菌肥联用促进了秸秆的还田, 尤其促进了秸秆中最顽固组分木质素的降解. MC 中的微生物具有分泌木质纤维素降解酶系的能力, 而 OF 中含有多种有益因子, 在秸秆降解初期可为微生物提供充足的养分, 促进微生物的增殖和对秸秆中木质纤维素的利用.

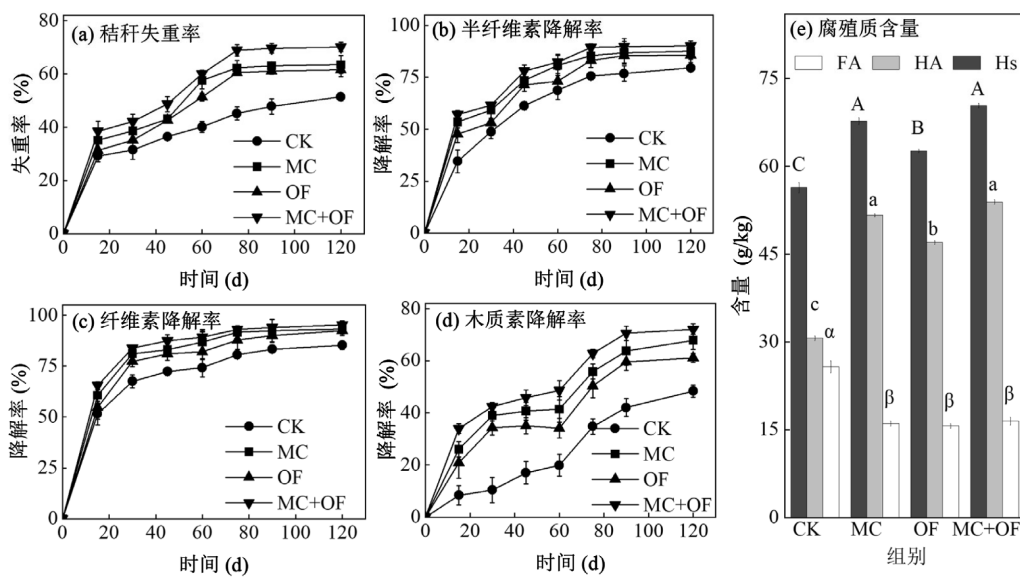


图 2 还田过程中秸秆的降解率变化和还田结束时腐殖质的含量

Fig.2 Changes in the degradation rate of straw returning and humus content at the end of returning

如图 2(e) 所示, 还田 120d 后 MC+OF 组腐殖质总量最高, 达 70.39g/kg, 较 CK 组高 24.87%, 添加 MC 或 OF 后胡敏酸含量较 CK 组高 53.39%~75.59%. 表明 MC 或 OF 的使用对秸秆降解作用显著高于单一秸秆还田 ($P < 0.05$), 而两者联用促进了秸秆降解和腐殖化过程, 具有最高的腐殖酸含量, 实现了秸秆中碳素的最大量返田.

2.2 还田过程中土壤性质变化

2.2.1 土壤理化性质 土壤 pH 值的变化

土壤 pH 值的变化由秸秆降解释放的钙、镁等多种碱性盐基离子和有机酸产生与转化等因素决定. 土壤本底 pH 值呈现弱酸性, 还田后土壤 pH 值先快速上升后小幅度降低至平稳(图 3(a)). 还田前 60d, 随着秸秆逐渐分解, 其中的钙、镁等多种碱性盐离子进入土壤, 同时此阶段秸秆降解菌剂中有机物转化菌群对秸秆分解产生的小分子

有机酸快速代谢利用, 使土壤 pH 值升高并达到峰值. 后期因大分子腐殖酸的形成使土壤 pH 值降低^[1], 至还田 120d 时, CK、MC、OF 和 MC+OF 组土壤 pH 值逐渐稳定在 6.64~6.78. 而 MC+OF 组 pH 值最先降低, 且在后期 pH 值处于较低状态. 表明 MC+OF 提高了秸秆的降解和小分子有机酸的代谢及后期腐殖酸的产生.

如图 3(b), 土壤 EC 呈先增加后下降的趋势. 主要原因是由于秸秆分解释放可溶性盐离子和有机酸, 而有机酸的产生使土壤多种阴阳离子浸出, 导致土壤 EC 不断上升, 后期微生物对盐离子和有机酸的转化利用及土壤淋溶等综合作用, 使土壤 EC 逐渐下降. 还田 120d 时, 去除有机肥的初始贡献后, CK、MC、OF 和 MC+OF 组 EC 较初始值分别增加 0.056, 0.125, 0.098, 0.182mS/cm. MC+OF 组 EC 增加量显著高于其

他 4 组 ($P < 0.05$), 表明菌肥联用对秸秆分解更彻底且能使多种盐离子的溶出。

TOM 是土壤碳库的重要部分, 影响土壤的生产力和可持续利用^[24]。如图 3(c), 各处理 TOM 含量总体升高, 还田 120d 后, 去除有机肥的初始贡献, CK、MC、OF 和 MC+OF 组 TOM 较初始值分别增加

12.25%、25.95%、13.85% 和 23.42%。分解的秸秆是土壤 TOM 的重要组成部分, 而接种 MC 后土壤 TOM 含量显著增高, 此外, 高含量的 TOM 可增加土壤团聚体的稳定性, 良好的团聚结构有利于土壤养分保留, 如可将易流失的无机氮转化为相对稳定的有机氮, 微生物对氮的利用过程中也可增加碳的固定^[19]。

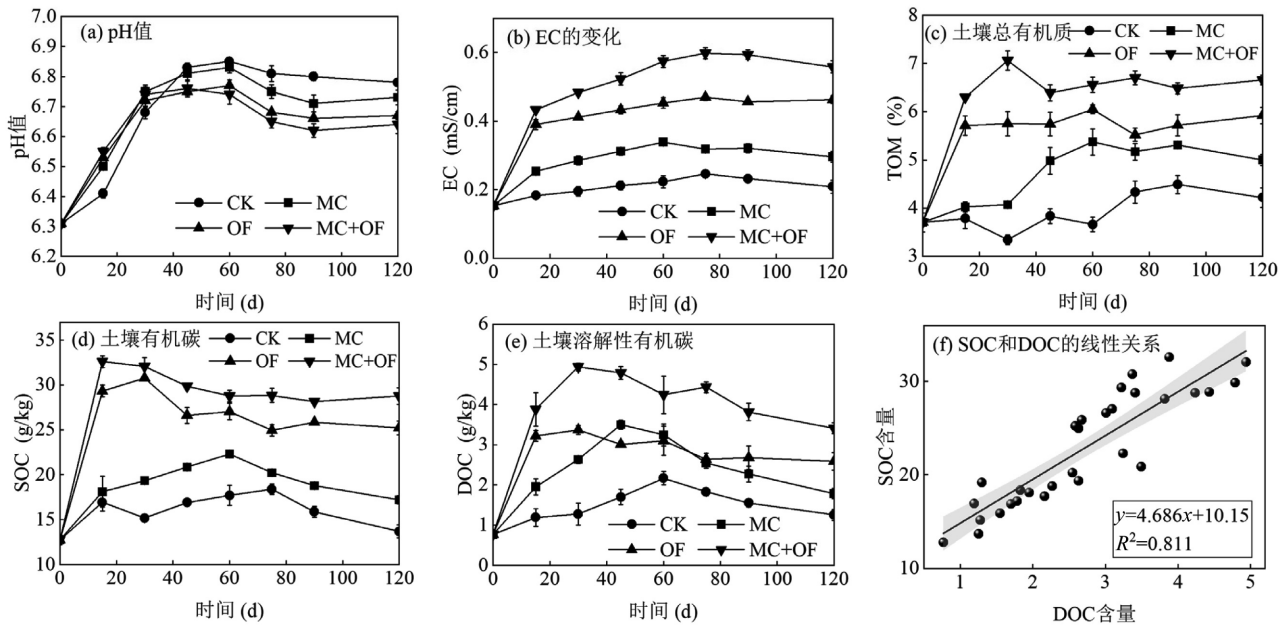


图 3 土壤理化指标变化情况及 SOC 与 DOC 的线性回归

Fig.3 Changes in soil physicochemical indicators and linear regression between SOC and DOC

阴影区域是回归线的 95% 置信区间

SOC 反映了土壤中的有机碳总量, 在改善土壤质量和作物生产方面至关重要。DOC 是土壤 SOC 变化的敏感指标, 也是土壤微生物可直接吸收利用的有机碳源^[1]。OF 的添加在短期内迅速提高了土壤中 SOC 和 DOC 含量(图 3(d)~图 3(e)), 但中后期因秸秆降解程度有限, 对 SOC 和 DOC 含量影响较小。MC 组和 CK 组在还田过程中的 SOC 和 DOC 含量逐渐增加, 但 MC 组中 SOC 和 DOC 含量达到峰值时间更短, 且峰值显著高于 CK 组。还田结束时, 去除有机肥的初始贡献, CK、MC、OF 和 MC+OF 组 SOC 较初始值分别增加 6.87%、25.84%、24.04% 和 33.39%, DOC 较初始值分别增加 38.79%、56.94%、49.88% 和 62.00%。120d 后 MC+OF 组 TOM、SOC 和 DOC 的增量显著高于秸秆还田的现有报道^[11,18]。

上述结果发现 MC 或 OF 的使用提高了土壤中碳组分含量, 而 MC+OF 组具有最大的秸秆碳回流量。MC 中的功能微生物通过促进秸秆的降解, 增加

了土壤 DOC 含量。DOC 的增加可提升土壤微生物数量和活性, 促进多种腐生真菌的生长, 而腐生真菌能分泌大量的木质纤维素降解酶, 又有利于秸秆降解释放碳素并降低秸秆粒径^[19]。释放的碳素中含有大量腐殖质的前体物质, 有助于腐殖质的快速聚合, 将不稳定的有机碳转化为稳定的腐殖质类物质, 实现碳的固存。此外, 还田秸秆粒径的降低以及 OF 的添加可吸附多种碳素, 减少碳损失^[11]。DOC 与 SOC 线性正相关(图 3(f)), 表明秸秆还田在提高土壤有机碳时也有利于生物可快速利用的碳组分提升。

2.2.2 土壤有效养分含量变化 各处理组中有效养分含量和养分相对增量变化如图 4。MC+OF 组 AN、AP、AK 含量峰值最高(图 4(a)), 分别较初始含量高 193.64, 57.17, 105.93 mg/kg(图 4(b))。还田 120d 后, MC+OF 组 AN、AP、AK 含量分别较初始增加 39.64, 28.86, 65.71 mg/kg, 总速效养分 (AN+AP+AK) 增量达 134.21 mg/kg, 显著高于其他处理 (18.79~

88.32mg/kg, $P<0.05$).土壤中有有效养分的来源主要是还田秸秆中氮磷钾的释放,以及原始土壤中氮磷钾的活化^[25].接种 MC 后加速了秸秆的降解并释放氮磷钾,此外,土壤微生物活性的提高直接促进土壤中氮磷钾的有效性.与 Xu 等^[26]报道不同的是本研究中 CK 组速效钾含量降低了 7.98mg/kg,这可能是由于还田后未及及时腐解秸秆过渡的增加了土壤孔隙度,导致钾淋溶增加.

2.2.3 土壤酶活力变化 土壤酶活反映了土壤中各种生物化学反应的强度,对秸秆降解和土壤养分循环具有重要作用^[18].土壤中 SUC、UR 和 NP 可分别实现土壤碳、氮、磷元素的转化,能有效驱动还田过程中秸秆的分解转化.

由图 5 可见,3 种酶活力均呈前期升高后期稍降低的趋势.还田 60d 时,MC+OF 组 SUC 最高,达 10.78mg/(g·d),峰值较其他组高(图 5(a)).120d 后,MC+OF 组 SUC 显著高于其他处理组($P<0.05$).各处理组 UR 活力基本在还田 75d 左右达到峰值(图 5(b)),OF 和 MC+OF 组 UR 峰值较初始分别提高 3.47 和 3.43 倍,两组 UR 升高幅度显著高于 CK 组和 MC 组($P<0.05$).还田至 75d 时 CK、MC、OF 和 MC+OF 组 NP 分别为 0.51,1.24,1.91 和 2.02mg/(g·d)(图 5(c)).至还田 120d 时,OF 和 MC+OF 组由于施加了有机肥,增加了土壤有机态磷和无机态磷,土壤 NP 活力高于 CK 组和 MC 组.整个还田过程中,MC+OF 组 NP 活力始终高于其他处理.

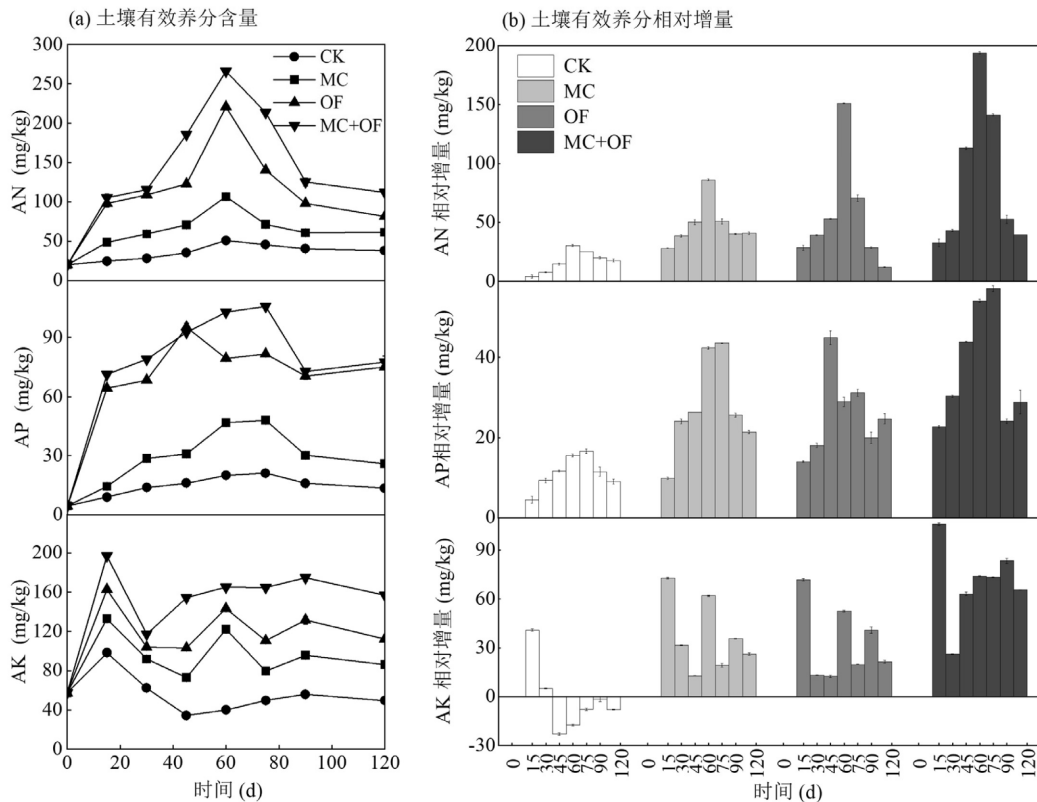


图 4 土壤有效养分含量和养分相对增量的变化情况

Fig.4 Changes in soil available nutrient content and relative nutrient increment

添加 MC 并配施 OF 提高了土壤酶活力,增强了土壤中各种生物化学反应.土壤酶是连接土壤微生物和土壤化学过程的重要媒介,主导了有机物分解和养分循环,而 MC 和 OF 的添加通过促进秸秆快速还田,为土壤酶提供更多且更丰富的酶促反应基质和有利的环境条件,进而提高了土壤中碳、氮、磷等

营养元素转化速率.同时,较高的土壤酶活力促进秸秆快速腐解,改善土壤结构,有机肥的使用可为各种酶提供载体,秸秆分解过程中释放的有机酸可以激活土壤有效成分^[19].

2.2.4 土壤微生物群落结构 对各处理初始样品(IP),秸秆降解高峰期(30d)以及稳定后(90d)3 个阶段

的土壤样品进行微生物群落结构分析.使用 Illumina 的 Miseq PE300 平台,共获得 629525 个高质量序列,平均长度为 416bp.通过聚类选择获得 3437 个 OTU,相似度超过 97%.Shannon 和 Simpson 指数结果显示,

秸秆还田 30d 时,MC+OF 组具有更高的细菌和真菌的丰富度和多样性,表明 MC+OF 能有效保持该阶段土壤中的微生物种类和丰度.至还田结束时,各组间的 α 多样性指数差异不显著.

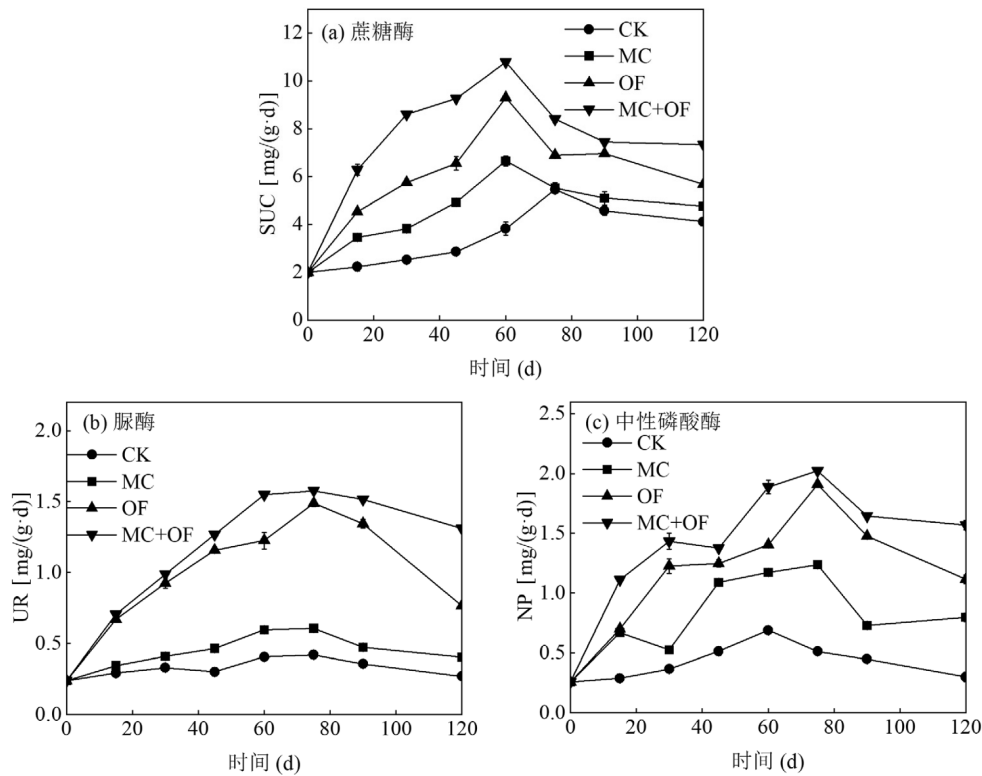


图5 秸秆还田过程中土壤酶活力变化

Fig.5 Changes in soil enzyme activity during returning straw

表2 秸秆还田过程中各组细菌和真菌的 α 多样性指数

Table 2 Distribution of bacteria and fungi in each group during the process of straw returning α diversity index

样品	细菌			真菌		
	Chao1	Shannon	Simpson	Chao1	Shannon	Simpson
IP	2500.86	5.50	0.01	475.08	3.13	0.11
CK30	2438.27	5.30	0.03	522.84	3.02	0.10
MC30	2343.11	4.74	0.05	386.04	2.68	0.16
OF30	2267.31	5.09	0.04	264.50	2.77	0.12
MC+OF30	2327.01	5.68	0.01	417.66	3.04	0.10
CK90	2672.98	5.86	0.01	338.27	2.54	0.18
MC90	2627.09	5.37	0.03	370.09	3.25	0.10
OF90	2618.38	5.63	0.01	360.92	2.81	0.11
MC+OF90	2653.18	5.88	0.01	362.77	2.22	0.27

微生物接种通过自身功能发挥或诱导招募土著微生物等方式协同降解还田秸秆.如图 6(a)所有处理中 *Arthrobacter*、*Lysobacter*、*Bacillus*、*Sphingomonas*、*Streptomyces* 为主要的细菌属.还田

30d 时接种 MC 诱导 *Alcaligenes*(13.64%)、*Ensifer*(6.28%)、*Brevundimonas*(5.95%)等微生物显著富集,还田后期 *Arthrobacter* 和 *Alcaligenes* 仍然保持较高丰度,其他微生物丰度各组差异不大.研究发现 *Alcaligenes*、*Bacillus* 可分泌大量与纤维素降解有关的糖苷水解酶,协同真菌降解秸秆^[27],而 *Ensifer*、*Brevundimonas* 具有分泌漆酶和木质素过氧化物酶的能力,参与还田秸秆中木质素的解聚^[28].上述功能微生物丰度的差异可能导致了接种 MC 组木质纤维素较快降解.

不同处理显著影响了还田土壤中真菌属水平上的微生物组成(图 6(b)),接种 MC 或施用 OF 后 Ascomycota 门的优势均提高至 90% 以上. Ascomycota 门中大多数成员是腐生真菌,具有与编码纤维素生物水解酶相关的 *cbhI* 基因,参与秸秆中半纤维素和纤维素等组分降解^[29].还田 30d 时,MC

中的 *Aspergillus* 能够占据优势地位,*Aspergillus* 可分泌漆酶、过氧化物酶等多种酶,促进木质素解聚为小分子有机物,是秸秆降解与转化的重要菌属^[30].此外,施用 OF 后显著增加了 *Microascus* 等腐生微生物的

丰度,OF30 和 MC+OF30 组 *Microascus* 的丰度较 CK30 分别高 19.71%和 25.42%.还田结束时,与细菌属水平组成不同的是各处理真菌属水平并未出现趋同演化,组间仍然存在较大差异^[1].

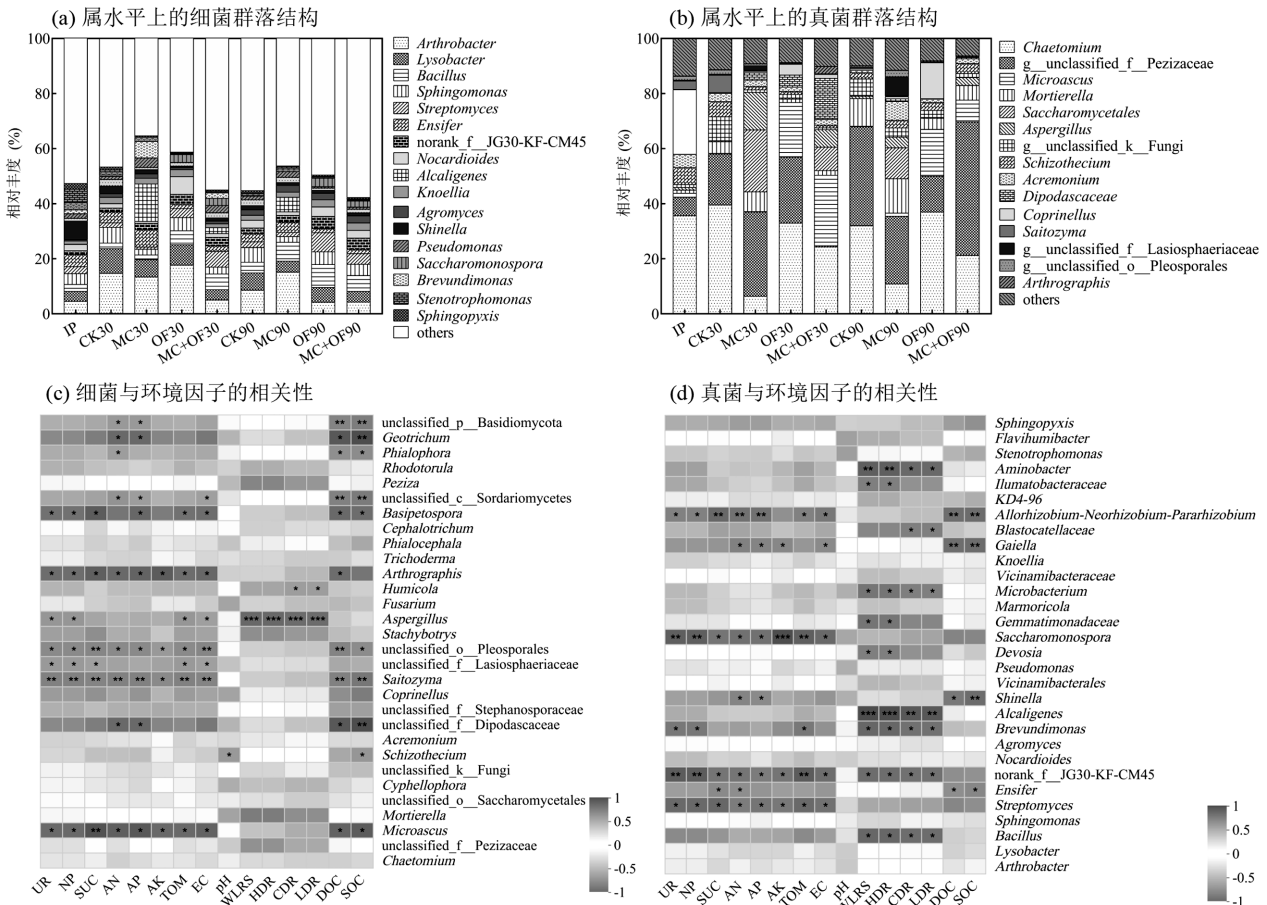


图 6 属水平微生物群落结构变化及微生物与环境因子间的 Spearman 相关性热图

Fig.6 Changes in the genus level microbial community structure and Spearman correlation heatmap between microorganisms and environmental factors

WLRS: 秸秆失重率, HDR: 半纤维素降解率, CDR: 纤维素降解率, LDR: 木质素降解率

还田过程中 MC 中的菌株及其诱导富集的微生物显著影响了秸秆木质纤维素的降解与土壤理化因子.如图 6(c),所有细菌对木质纤维素的降解未见显著负相关,其中接种 MC 诱导富集的 *Alcaligenes* 和 *Brevundimona* 与木质纤维素降解显著正相关 ($P<0.05$).此外,本研究发现 *Ensifer* 除具有降解木质纤维素的能力外,还对土壤 SOC 和 DOC 以及 AN 和 SUC 产生显著负影响 ($P<0.05$).如图 6(d),仅 MC 中的 *Aspergillus* 与秸秆降解呈极显著负相关 ($P<0.001$).此外, *Aspergillus* 还显著 ($P<0.05$) 影响了土壤有机质、UR 和 NP. *Dipodascaceae* 和 *Microascus* 与土壤

养分和酶活显著正相关 ($P<0.05$), *Dipodascaceae* 是 MC 接种后显著富集的微生物,而 *Microascus* 则在添加 OF 的两组中具有优势.此外,而 *unclassified_p_Basidiomycota*、*Phialophora* 和 *Saccharomycetales* 等非优势菌属则对土壤 SOC 和 DOC 以及土壤养分和酶活产生负影响 ($P<0.05$).上述结果表明,多数细菌与木质纤维素的降解正相关,主要由于细菌能快速利用木质纤维素代谢中间产物用于自身增殖^[8],而 *Alcaligenes* 和 *Brevundimonas* 对木质纤维素代谢中间产物的利用能力更强.与细菌不同的是真菌能够分泌更全面的木质纤维素降解酶系,能够直接降

解木质纤维素^[6].MC 和 OF 添加还能改变微生物群落结构,提高了有助于木质纤维素降解和土壤品质提升的微生物丰度.

2.2.5 功能预测分析 通过与 KEGG 数据库比较,对秸秆还田过程中细菌的代谢通路进行了预测,共获得 6 类生物代谢通路,其中代谢(Metabolism)是主要的 I 级通路(51.63%~53.72%),而氨基酸代谢(28.27%~28.76%)和碳水化合物代谢(26.39%~27.14%)是代谢通路中主要的 2 种 II 级代谢类型(图 7(a)).还田 30d 时,MC 组和 MC+OF 组的这 2 种代谢分别较 CK 组高 12.17%、8.38%和 10.71%、11.26%,至还田 90d 时 MC+OF 组这 2 种代谢类型的预测丰度显著高于其他处理.此外,高通量测序结果显示,MC 的接种改善了还田土壤系统中微生物群落结构,如提高了 *Ensifer*、*Alcaligenes* 等微生物丰度(图 6(a)),这些微生物具有高效的膜运输系统,用于碳水化合物和氨基酸的同化和代谢^[31].加速氨基酸和碳水化合物的代谢活性,同时氨基酸可与秸秆木质素衍生的多酚等碳水化合物缩聚形成腐殖质,可提高土壤中腐殖质的含量.

根据 FUNGuild 数据库比对结果,预测了秸秆还田过程中不同营养型真菌群落动态变化,结果显示,秸秆还田改变了土壤中真菌群落的营养模式(图 7(b)).原始土壤中病理-腐生-共生型和腐生型真菌丰度较高,秸秆还田后土壤中腐生-共生营养型真菌比例由 8.40%提高至 38.35%~50.38%,病理-腐生-共生营养型真菌比例由初始 44.17%降至 15.54%~36.61%.就病理、腐生和共生 3 种营养方式而言,秸秆还田 90d 后,接种 MC 或施用 OF 腐生和共生两种营养型真菌丰度升高,MC 处理中腐生型提高了 185.96%.腐生型真菌是土壤水解氧化酶的重要来源,可促进秸秆降解和腐殖化^[32],MC 组、OF 组和 MC+OF 组在还田 30 和 90d 时均保留了较高比例的腐生营养型真菌,因为菌剂中的 *Aspergillus* 是一种重要的腐生真菌,并在秸秆还田过程中占据优势地位.同时,OF 中也含有大量的腐生真菌.高腐生型和低病理型均有助于抑制土壤中的真菌病原体^[33],而接种 MC 或施用 OF 均降低了病理型真菌 OUT 丰度,MC+OF 组中最低,较 CK 组降低 73.41%.由于 MC 中的 *Aspergillus* 能分泌杀灭病虫害的对羟基苯甲酸、水杨酸、毛喉素等小分子有机物^[34].而微生物接种后

诱导富集的 *Alcaligenes* 等土著微生物也可提高参与毛喉素等抗菌剂合成的功能基因表达^[35].

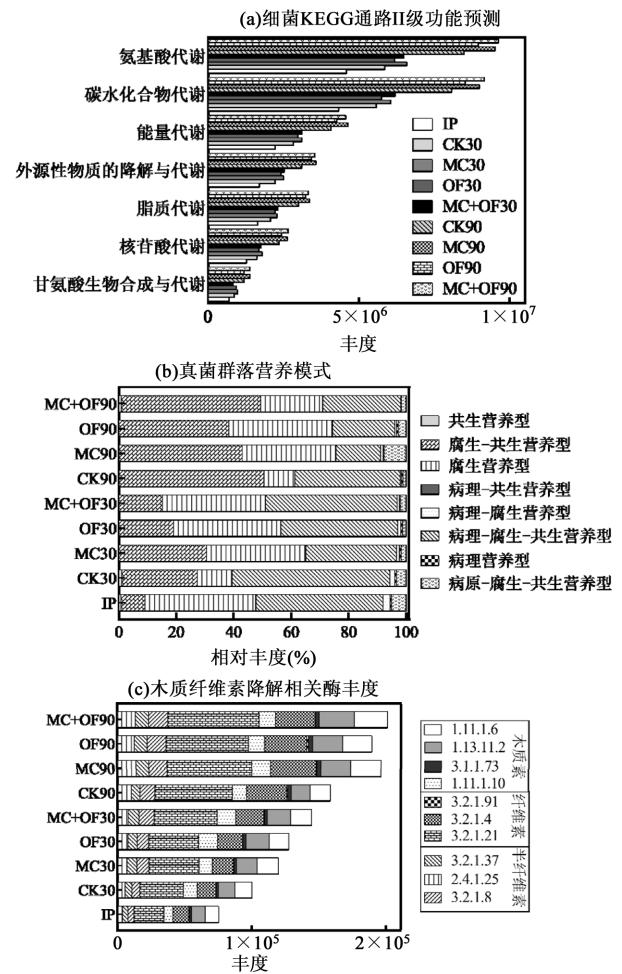


图 7 秸秆还田过程中微生物的功能预测分析
Fig.7 Functional prediction analysis of microbes during straw returning
数字代表酶编号

此外,本研究还分析了秸秆还田过程中细菌各功能酶丰度的变化,与木质纤维素降解转化相关且预测丰度较高的酶如图 7(c).预测结果显示还田后土壤中木质纤维素酶丰度均提高.接种 MC 后木质纤维素降解转化相关酶的预测丰度提升.如木聚糖 1,4- β -木糖苷酶(EC:3.2.1.37)等半纤维素降解酶, β -葡萄糖苷酶(EC:3.2.1.21)、纤维素酶(EC:3.2.1.4)等纤维素降解酶,氯过氧化物酶(EC:1.11.1.10)等木质素降解酶,这些酶积极促进了半纤维素、纤维素和木质素降解.而过氧化氢酶(EC:1.11.1.6)和邻苯二酚 2,3-双加氧酶(EC:1.13.11.2)可氧化多种木质素衍生物,并将其转化为醌类化合物,醌作为腐殖酸的基本

碳骨架,在腐殖酸聚合过程中发挥关键作用^[3,6]。上述预测结果表明接种 MC 和 OF 后增强了秸秆的微生物酶解,助力还田秸秆快速降解与腐殖化。

3 结论

3.1 MC 与 OF 的偶联作用效果优于单一使用,MC 中微生物通过自身功能发挥和诱导招募土著木质纤维素降解功能微生物协同促进秸秆降解,对秸秆中最顽固组分木质素的降解提升了 32.97%。

3.2 MC+OF 有利于还田过程中秸秆碳封存,还田结束时接种 MC 或施用 OF 提升了土壤中 HA 含量,MC+OF 处理土壤腐殖质总量最高,较 CK 组提高了 24.87%。

3.3 MC+OF 降低了土壤中 73.41%的病理营养型真菌丰度,提高了腐生和共生两种营养型真菌丰度,能有效降低土壤中病害发生。

3.4 MC+OF 提高了土壤中 C、N 和 P 代谢的微生物多样性和丰度及土壤酶活力,还田结束后,MC+OF 组总速效养分(AN+AP+AK)增量达 134.21mg/kg,显著高于其他处理($P<0.05$)。

参考文献:

- [1] Chen L, Sun S, Zhou Y, et al. Straw and straw biochar differently affect fractions of soil organic carbon and microorganisms in farmland soil under different water regimes [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2023,32:103412.
- [2] 张鑫,青格尔,高聚林,等.玉米秸秆低温降解复合菌的筛选及其菌种组成 [J]. *农业环境科学学报*, 2021,40(7):1565-1574.
Zhang X, Qing G, Gao J, et al. Screening and composition of the microbial consortium with corn straw decomposition under low temperature [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021,40(7):1565-1574.
- [3] 严东权,薛颖昊,徐志宇,等.我国农作物秸秆直接还田利用现状、技术模式及发展建议 [J]. *中国农业资源与区划*, 2023,44(4):1-14.
Yan D, Xue Y, Xu Z, et al. Current utilization status, technical models and development proposals for direct crop straw returning to field in China [J]. *Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning*, 2023,44(4):1-14.
- [4] Jing X, Chai X, Long S, et al. Urea/sodium hydroxide pretreatments enhance decomposition of maize straw in soils and sorption of straw residues toward herbicides [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 431:128467.
- [5] 常远,李若琪,李珺,等.好氧堆肥腐殖酸形成机制及促腐调控技术概述 [J]. *中国环境科学*, 2023,43(10):5291-5302.
Chang Y, Li R Q, Li J, et al. Mechanism and regulation method of humic acid formation in composting—a review [J]. *China Environmental Science*, 2023,43(10):5291-5302.
- [6] Borjigin Q, Yu X, Gao J, et al. Taxonomic structure and function of the corn stover degradative microbial consortium GF-20 following growth on different sources of nitrogen [J]. *Annals of Applied Biology*, 2022,180(2):236-246.
- [7] Zhao S, Qiu S, Xu X, et al. Change in straw decomposition rate and soil microbial community composition after straw addition in different long-term fertilization soils [J]. *Applied Soil Ecology*, 2019,138:123-133.
- [8] 梅新兰,郑海平,李水仙,等.降解水稻秸秆细菌-真菌复合菌系的构建与评价 [J]. *农业环境科学学报*, 2021,40(10):2217-2225.
Mei X, Zheng H, Li S, et al. Construction and evaluation of bacterial-fungal consortia for rice straw degradation [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021,40(10):2217-2225.
- [9] 胡春霞,陈波,张庭廷.稻草秸秆发酵液的抑藻效应及其机理 [J]. *中国环境科学*, 2021,41(4):1925-1931.
Hu C, Chen B, Zhang T. Study on the algae inhibition effect and mechanism of the fermented liquid of rice straw [J]. *China Environmental Science*, 2021,41(4):1925-1931.
- [10] Xiao D, He X, Wang G, et al. Network analysis reveals bacterial and fungal keystone taxa involved in straw and soil organic matter mineralization [J]. *Applied Soil Ecology*, 2022,173:104395.
- [11] Cao B, Qu C, Guo Y et al. Long-term nitrogen and straw application improves wheat production and soil organic carbon sequestration [J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2022,22(3):3364-3376.
- [12] Meng F, Dungait J A J, Xu X, et al. Coupled incorporation of maize (*Zea mays* L.) straw with nitrogen fertilizer increased soil organic carbon in Fluvic Cambisol [J]. *Geoderma*, 2017,304:19-27.
- [13] Xu P, Li G, Houlton B Z, et al. Role of organic and conservation agriculture in ammonia emissions and crop productivity in China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022,56(5):2977-2989.
- [14] Qi Y, Wu Z, Zhou R, et al. Nitrogen reduction with bio-organic fertilizer altered soil microorganisms, improved yield and quality of non-heading Chinese Cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino) [J]. *Agronomy-Basel*, 2022,12(6):1473.
- [15] Li M, Jiang H, Mo X, et al. Biostimulation accelerates landfill stabilization and resource utilization efficiency, providing feasible technical support for the overall lifecycle management of landfills [J]. *Chemosphere*, 2024,142984.
- [16] Zhang Z, Liu D, Wu M, et al. Long-term straw returning improve soil K balance and potassium supplying ability under rice and wheat cultivation [J]. *Scientific Reports*, 2021,11(1):22260.
- [17] Li M X, He X S, Tang J, et al. Influence of moisture content on chicken manure stabilization during microbial agent-enhanced composting [J]. *Chemosphere*, 2021,264:128549.
- [18] Wang Y, Wu P, Mei F, et al. Does continuous straw returning keep China farmland soil organic carbon continued increase? A meta-analysis [J]. *Journal of Environmental Management*, 2021,288:112391.
- [19] 靳玉婷,李先藩,蔡影,等.秸秆还田配施化肥对稻-油轮作土壤酶活性及微生物群落结构的影响 [J]. *环境科学*, 2021,42(8):3985-3996.
Jin Y T, Li X P, Cai Y, et al. Effects of straw returning with chemical fertilizer on soil enzyme activities and microbial community structure in rice-rape rotation [J]. *Environmental Science*, 2021,42(8):3985-

- 3996.
- [20] Motte J C, Watteau F, Escudie R, et al. Dynamic observation of the biodegradation of lignocellulosic tissue under solid-state anaerobic conditions [J]. *Bioresource Technology*, 2015,191:322-326.
- [21] Kapoor M, Raj T, Vijayaraj M, et al. Structural features of dilute acid, steam exploded, and alkali pretreated mustard stalk and their impact on enzymatic hydrolysis [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015,124:265-273.
- [22] Zhang S, Xiao J, Wang G, et al. Enzymatic hydrolysis of lignin by ligninolytic enzymes and analysis of the hydrolyzed lignin products [J]. *Bioresource Technology*. 2020,304:122975.
- [23] Diaz A B, de Souza Moretti M M, Bezerra-Bussoli C, et al. Evaluation of microwave-assisted pretreatment of lignocellulosic biomass immersed in alkaline glycerol for fermentable sugars production [J]. *Bioresource Technology*, 2015,185:316-323.
- [24] 李文杰,左翔之,王 建,等.生物炭施用土壤的固碳减排效应及机制 [J]. *中国环境科学*, 2023,43(11):5913-5923.
- Li W J, Zuo X Z, Wang J, et al. Effect and mechanism of biochar application on soil carbon sequestration and mitigation [J]. *China Environmental Science*. 2023,43(11):5913-5923.
- [25] 白金泽,刘镇远,宋佳杰,等.秸秆还田配施生物炭对关中平原夏玉米产量和土壤 N₂O 排放的影响 [J]. *环境科学*, 2022,43(8):4379-4386.
- Bai J Z, Liu Z Y, Song J J, et al. Effects of straw returning and biochar application on summer maize yield and soil N₂O emission in Guanzhong Plain [J]. *Environmental Science*, 2022,43(8):4379-4386.
- [26] Xu X, Pang D, Chen J, et al. Straw return accompany with low nitrogen moderately promoted deep root [J]. *Field Crops Research*, 2018,221:71-80.
- [27] Zhong B, An X, An W, et al. Effect of bioaugmentation on lignocellulose degradation and antibiotic resistance genes removal during biogas residues composting [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 340:125742.
- [28] Jiang C, Cheng Y, Zang H, et al. Biodegradation of lignin and the associated degradation pathway by psychrotrophic *Arthrobacter* sp. C2 from the cold region of China [J]. *Cellulose*, 2020,27(3):1423-1440.
- [29] 阿瓦古丽·图尔荪,张新强,负丰泽,等.乌鲁木齐市河马泉新区土壤微生物多样性及其影响因素分析 [J]. *中国环境科学*, 2023,43(S1):277-287.
- Tursun Awagul, Zhang X Q, Yun F Z, et al. Analysis of soil microbial diversity and influencing factors in Hemaquan New District in Urumqi [J]. *China environmental Science*, 2023,43(S1):277-287.
- [30] Lu X, Yang Y, Hong C, et al. Optimization of vegetable waste composting and the exploration of microbial mechanisms related to fungal communities during composting [J]. *Journal of Environmental Management*, 2022,319:115694.
- [31] Enebe M C, Babalola O O. Functional diversity of bacterial communities in the rhizosphere of maize grown on a soil under organic and inorganic fertilization [J]. *Scientific African*, 2022,16:e01212.
- [32] Chen Y, Tian W, Shao Y, et al. *Miscanthus* cultivation shapes rhizosphere microbial community structure and function as assessed by Illumina MiSeq sequencing combined with PICRUSt and FUNGUId analyses [J]. *Archives of Microbiology*, 2020,202(5):1157-1171.
- [33] Su Y, Zi H, Wei X, et al. Application of manure rather than plant-origin organic fertilizers alters the fungal community in continuous cropping tobacco soil [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022,13:818956.
- [34] Aimal K, Anwar H, Farman A, et al. Biocontrol of root knot nematodes by endophytic fungus isolated from garlic [J]. *Scientia Horticulturae*, 2024,332,113223.
- [35] Anthati M, Digeshwar R, Syed G, et al. Plant probiotic bacterial endophyte, *alcaligenes faecalis*, modulates plant growth and forskolin biosynthesis in *Coleus forskohlii* [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2019,12:481-493.

作者简介: 李明星(1992-),男,陕西渭南人,西南交通大学博士研究生,主要研究方向有机废物处理与资源化.发表论文 10 余篇. mxli17@126.com.