

# 《低温腐解功能菌的评估方法》

## 编制说明

### 一、标准制定意义

我国东北地区作为重要的粮食主产区，每年产生大量农作物秸秆。据统计，全国秸秆年产量超过 8 亿吨，其中玉米秸秆占比最大。秸秆含有丰富的纤维素（40%~50%）、半纤维素（25%~30%）和木质素（15%~20%），是重要的有机质资源。秸秆还田是恢复黑土地生态资源、改善土壤结构、提升土壤有机质含量的有效途径。

然而，东北地区秋冬季节温度较低（10℃~20℃），低温条件下微生物降解木质纤维素的酶活性显著降低，导致秸秆降解缓慢，限制了秸秆还田和肥料化处理效率。因此，筛选和评价能够在低温条件下高效降解秸秆的功能性菌株，对于解决低温地区秸秆降解难题具有重要意义。

目前，关于微生物降解秸秆的研究主要集中在常温条件（25℃~30℃），而针对低温条件（10℃~20℃）下腐解菌的评价尚缺乏统一的标准。现有的评价方法多采用单一酶活指标或单一降解实验，缺乏基于漆酶、纤维素酶、半纤维素酶、过氧化物酶多酶系协同作用的综合评价体系。

对于秸秆腐解性能的评价，农业部微生物肥料和食用菌菌种质量监督检验测试中心于 2015 年发布了《秸秆腐熟菌剂腐解效果评价技术规程》行业标准（NY/T 2722-2015），规定了秸秆腐熟菌剂在田间条件下的腐解效果评价技术要求，利用失重率法和抗拉强度法在田间条件下对秸秆腐熟菌剂的腐解性能进行了评价，指出了失重率法和抗拉强度法适用范围。尽管如此，对于大量广泛的进行腐解微生物的筛选仍然无标可依，阻碍了当下腐解微生物菌株的筛选以及腐解微生物菌剂的开发。因此，急需建立科学、规范的腐解功能菌的筛选技术标准，指导低温腐解微生物菌株的快速筛选，提高腐解菌株质量，促进腐解菌剂的开发，解决我国东北低温地区秸秆降解难题，提升东北地区黑土肥力。

本标准的制定，旨在建立一套基于多酶系协同评价方法的低温腐解功能性菌评价标准，为低温条件下秸秆降解菌株的筛选、评价和应用提供统一的技术规范，推动秸秆还田技术的发展。

### 二、制定过程

2021 年 6 月~2023 年 9 月，本团队对国内外秸秆腐解微生物现行评估方法进行了大量的调研，通过对比分析初步制定了一套低温腐解功能菌的评估技术体系，同时广泛听取了相关领域专家的建议，对低温腐解功能菌的评估技术进行了进一步的修正，这为本标准的起草提供了参考。

2021年9月~2025年12月，研究团队从对于吉林省（公主岭示范点、梨树示范点、长岭实验站、大安实验站）、黑龙江省（齐齐哈尔示范区、北安示范区）、内蒙古省（额尔古纳）土壤样品中分离的微生物和现有微生物资源，利用建立的快速评价技术体系进行功能评价，完成了1074株低温腐解微生物的筛选，这为本标准的起草积累了大量实验数据。

2026年4月~2025年9月，标准起草小组成员落实工作方案，完成了本标准的起草工作，在小组内部进行了数次的讨论与修改，形成标准征求意见稿；随后，邀请从事秸秆降解、微生物筛选与评价的一线科研人员和管理人员对本标准进行审阅和修改。最后，按照中国菌物学会要求，进行了标准的优化与提交工作。

### 三、制定依据

本标准严格按照 GB/T 1.1 2009 《标准化工作导则第 1 部分：标准的结构和编写》和《中国菌物学会团体标准管理办法》的要求编写。同时参照 NY/T 2722-2015 《秸秆腐熟菌剂腐解效果评价技术规程》、GB/T 32725—2016/ISO 10381-6:2009 《实验室测定微生物过程、生物量与多样性用土壤的好氧采集、处理及贮存指南》、GB/T 38488-2021 《微生物快速测定方法》、GB/T 34224-2017 《生物产品中功能性微生物检测》等文件及相关资料制定。

### 四、编写原则

本标准遵循科学性、可比性、可操作性和安全性原则。首先，以低温生长和实际秸秆降解为应用目标，避免只凭平板显色圈或单一酶活作结论；其次，固定温度、培养龄、接种量、底物和重复数，保证跨批比较；再次，采用实验室可获得的分光光度计、恒温培养箱和天平等设备，控制检测成本；最后，将污染、空白失效、记录缺失和高风险菌株列为否决或暂停判定事项。通过充分听取各方意见，确保标准可以作为政府部门监督、指导生产的依据，在实践中切实可行。

### 五、指标体系

本标准参照国内外公开发表的微生物降解秸秆研究报告和生产实践，结合菌株筛选与评价的实际经验，提出了低温腐解功能菌的评估方法。质控指标。在实施过程中，对涉及我国现行有关农业法律、法规和相关的强制性标准内容，本标准同样适用。

### 六、与有关现行法规和强制性标准的关系

本标准实施时，应符合国家现行农业、微生物资源、生物安全、危险化学品、废弃物处置和菌种管理等法律法规及强制性标准。涉及培养基和试剂质量、菌种生产、菌种通用技术、样品保存和实验室安全的，应分别执行相应现行规定。当本标准与上位强制性要求不一致时，以上位要求为准，包括但不限于微生物实验室安全防护工作规范（DB1306/T 296-2025），实验室生物安全通用要求（GB 19489-2008e）和《土壤

污染防治行动计划》的要求等。

## 七、标准主要技术内容的说明

### 7.1 范围

本标准界定了低温条件（10℃~20℃）下腐解功能性菌的评价方法，包括真菌、细菌等微生物菌株或菌群。低温条件的选择基于东北地区秋冬季节的实际温度范围，确保标准具有实际应用价值。

### 7.2 术语和定义

定义了低温腐解、功能性菌、多酶系协同评价、滤纸崩解实验、酶活单位等 5 个关键术语。"低温腐解"明确温度范围为 10℃~20℃，"多酶系协同评价"强调漆酶、纤维素酶、半纤维素酶、过氧化物酶的综合评价，反映了本标准的核心创新点。

### 7.3 评价原则

确立了四项评价原则：科学性原则、多指标综合评价原则、低温适应性原则和可操作性原则。其中，多指标综合评价原则和低温适应性原则是本标准的核心特色，区别于已有标准。

### 7.4 评价技术流程

规定了从菌株活化、平板初筛、液体发酵、酶活测定、滤纸崩解实验到秸秆降解实验和综合评价的完整流程。

### 7.5 多酶系协同评价方法

7.5.1 平板初筛：采用 4 种特异性底物平板进行初步筛选，包括愈创木酚平板（漆酶）、CMC-Na 平板（纤维素酶）、木聚糖平板（半纤维素酶）和苯胺蓝平板（过氧化物酶）。以 EI 值 $\geq 1.0$  为阳性判断标准，该标准参考了杨会敏（2023）毕业论文中的实验数据。

7.5.2 酶活定量测定：分别规定了漆酶（ABTS 法）、纤维素酶（CMC-Na-DNS 法）、半纤维素酶（木聚糖-DNS 法）和过氧化物酶（DMP 法）的测定方法。各方法的反应条件、试剂浓度和酶活计算公式均基于实验验证数据确定。

### 7.6 滤纸崩解实验

滤纸崩解实验是快速评估纤维素降解能力的有效方法。本标准将滤纸崩解分为 I~IV 级，分别对应强、中、弱、无崩解四个等级。该实验方法参考了杨会敏（2023）毕业论文中纤维素降解能力的评价方法，优化了观察时间点和等级划分标准。

### 7.7 秸秆实际降解实验

秸秆实际降解实验是评价菌株功能性的核心指标。本标准以玉米秸秆为推荐底

物，规定了  $15\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  的低温培养条件，并以  $20\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  和  $26\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  为对照温度。培养周期为 30 d~50 d，测定指标包括干重降解率、纤维素含量变化和微观结构变化。

征求意见稿