

木质素降解菌对腐殖质形成的影响的研究^①

黄红丽^{②*} 刘剑潇^{***} 郁红艳^{**} 黄丹莲^{*} 陈芙蓉^{*} 王仁佑^{*} 徐祥民^{***} 曾光明^{③*}

(^{*} 湖南大学环境科学与工程学院 长沙 410082)

(^{**} 中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

(^{***} 中国海洋大学环境科学与工程学院 青岛 266003)

摘 要 采用接种培养方法研究了不同木质素降解菌对木质素降解率、腐殖质总量、各组分含量及胡敏酸 *E4/E6* 的影响。结果表明,接种黄孢原毛平革菌和栗褐链霉菌对稻草的降解均有所提高,56 天培养后,二者的木质素降解率分别达到 40.86% 和 31.04%,而对照组(只含有土著微生物)只有 10.56%。接种黄孢原毛平革菌和栗褐链霉菌显著提高了腐殖质产量,这两种不同木质素降解菌产生腐殖质的最大值分别是对照组的 2.10 和 2.13 倍,但二者降解木质素形成腐殖质的途径有所不同。培养结束后,各条件下土壤中胡敏酸 *E4/E6* 均有所增加,表明胡敏酸的芳构化程度有所减弱。

关键词 黄孢原毛平革菌,栗褐链霉菌,木质素,木质素降解菌,腐殖质

0 引 言

好氧堆肥是一种常用的发酵处理农业固体废物的方法^[1-3]。在堆肥过程中,微生物利用有机物质作为能源,通过生物转化形成大量稳定的腐殖酸类物质。由于农业固体废物中含有大量难降解的木质纤维素,因而加快木质素转化为腐殖质的速度,则成为使堆肥充分腐熟的关键^[4,5]。

Waksman 提出的木质素学说认为植物组织,尤其是木质化组织,在土壤中或多或少发生外表上的变化而形成腐殖物质^[6,7]。该学说表明木质素降解与腐殖质形成有着密切的联系,众多研究也进一步证实了这一观点。来航线等^[8]研究了几种土壤微生物(枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌、木霉、青霉、球孢链霉菌、灰褐链霉菌)对土壤腐殖质形成的作用,发现各类微生物在土壤腐殖质总量的形成中均起到积极作用,木霉形成腐殖质总量和胡敏酸的含量最高,腐殖化率(胡敏酸与富里酸含量之比)最大,而球孢链霉菌形成的腐殖质分子量最大,芳构化程度最高。Lopez 等^[9]通过纯培养技术研究了三种木质纤维素降解真菌对园艺植物残体混合物中木质素的降解,其中木质素降解率与腐殖物质含量的相关分析结果

表明木质素降解与腐殖质形成存在正相关关系。刘艳华和 Wei 等^[10,11]系统分析了在城市生活垃圾堆肥过程中接种外源微生物腐殖质组分的变化,发现接种富含木质纤维素降解菌的发酵菌更有利于堆肥腐殖化程度的增加。但不同的木质素降解微生物对木质素的降解机理不同,它们对腐殖质形成的作用也将有所不同。针对这种情况,本文通过固态培养方法比较研究了接种不同木质素降解菌(黄孢原毛平革菌和栗褐链霉菌)条件下木质素降解率、腐殖质总量(humic extract, HE)、胡敏酸(humic acid, HA)、富里酸(fulvic acid, FA)的含量及胡敏酸 *E4/E6* 的变化,从而探讨木质素降解与腐殖质形成的关系。

1 材料和方法

1.1 菌种

黄孢原毛平革菌 *Phanerochaete chrysosporium* (AF 96007)、栗褐链霉菌 *Streptomyces badius* (AA 92301)均购自中国典型培养物保藏中心。

1.2 材料

土样取自湖南大学岳麓山菜园土壤表层,去除根茎、树叶,室内风干至恒重,粉碎过 40 目筛备用。经

① 863 计划(2004AA649370)、973 计划(2005CB724203)、长江学者和创新团队发展计划(IRT0719)、湖南省环境保护科技项目(2007185)资助。

② 女,1980 年生,博士;研究方向:固体废物资源化及微生物技术研究;E-mail: ahuanghongli@163.com

③ 男,1962 年生,教授,博士生导师,国家教育部长江学者特聘教授;研究方向:固体废物资源化;E-mail: zgming@hnu.cn
(收稿日期:2008-03-17)

分析其总有机质、HE、HA、FA 含量分别为43.06g/kg, 2.58g/kg, 0.97g/kg, 1.61g/kg; 稻草秸秆洗净后于70℃烘干至恒重, 剪断至约1cm长备用, 经分析含碳485.7g/kg, 含氮6.2g/kg, C/N 比为78.3。

1.3 实验方法

5g 稻草秸秆与100g 土样充分混合后置于250mL 锥形瓶中, 高温灭菌(115℃)1h。在无菌操作条件下按20mL/kg 接种量分别接种黄孢原毛平革菌和栗褐链霉菌菌悬液(2.0×10^6 个/mL), 并调节含水率(以田间持水量的60%和植物秸秆吸水量之和计), 其中土壤、添加的秸秆基质与接入的黄孢原毛平革菌或栗褐链霉菌共培养。而对照组不灭菌只调节含水率, 即土壤(仅含土著微生物)与添加的秸秆基质共培养。每个样品组设置24个重复样, 其中8个重复样供每个取样点参数测定使用, 且每个取样点做3个重复。所有样品组30℃下培养56d, 定期补充无菌水, 保持含水率。

1.4 参数测定

1.4.1 木质素降解率测定^[12]

采用国内外普遍使用的木质素定量分析标准方法——72%硫酸法(参见GB2677.8-81)测定木质素绝对含量, 通过计算得出木质素降解率。

1.4.2 腐殖质及组分含量测定^[13]

采用浸提液(0.1mol/L $\text{Na}_2\text{P}_4\text{O}_7$ 和 0.1mol/L NaOH)提取腐殖质, 浸出液的一部分用总有机碳分析仪测定其含碳量, 作为腐殖质总量; 吸取另一部分浸出液, 经酸化后, 使胡敏酸沉淀, 分离出富里酸, 测其含碳量。胡敏酸含量则由腐殖质总量与富里酸的差额算出。

1.4.3 胡敏酸 E4/E6 测定^[14]

采用分光光度计法。用0.05N NaHCO_3 溶液溶解提取腐殖质时得到的胡敏酸沉淀, 调其浓度(用含碳量表示)至40mg/L。在紫外分光光度计上分别测定465nm(E4)和665nm(E6)的光密度, 并求商值。

1.5 统计分析

全部数据用均数±标准偏差($\bar{X} \pm S$)表示, 采用two Independent Samples 过程进行差异显著性分析, 分析结果为 $P < 0.05$ 时, 表示统计学差异显著。所有的统计分析均用Microsoft Excel 2000 和 SPSS 13.0 软件进行。

2 结果

2.1 不同培养条件下木质素降解率的变化

三组样品中的木质素都有一定量的降解, 但接

菌组的木质素降解率远大于对照组(图1)。56d 培养后, 对照组的木质素降解率仅为10.56%, 而接种黄孢原毛平革菌组的木质素降解率达到40.86%, 接种栗褐链霉菌组也有31.04%。另外两者对木质素降解发生的时间也有所不同。接种黄孢原毛平革菌组的木质素在前期几乎没有降解, 培养7d后相对降解率(接菌组与对照组降解率之差)只有0.2%, 到后期才表现出较强的降解。而接种栗褐链霉菌组的木质素从一开始就有部分降解, 培养7d后相对降解率达到2.43%, 并且降解过程发生在整个培养阶段。

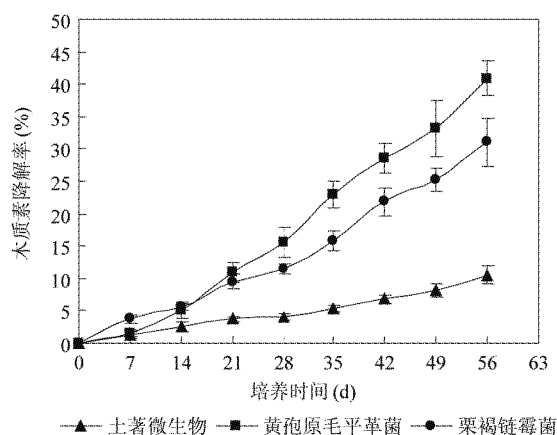


图1 不同培养条件下木质素降解率的变化

2.2 不同培养条件下腐殖质及其组分的变化

不同培养条件下腐殖质及其组分的含量变化见表1。随着培养时间的延长, 各培养条件下 HE、HA 的绝对数量(占供试土样重量的百分数)均呈增加趋势, 但培养一定时间后呈略微下降趋势; FA 的绝对数量则呈现明显的先增加后下降趋势, 至培养结束时已低于初始值。HE、HA、FA 的相对含量(占供试土样总碳量的百分数)也随着培养时间的延长呈增加趋势, 说明土壤中可提取腐殖质的量有所增加。统计分析结果表明: 接菌组腐殖质和胡敏酸的量与对照组差异显著($P < 0.05$), 接种黄孢原毛平革菌和栗褐链霉菌产生腐殖质的最大值分别是对照组的2.10和2.13倍, 但两种菌的作用差异不显著($P > 0.05$), 三个样品富里酸的量差异都不显著($P > 0.05$)。由此可见, 两种木质素降解菌均可显著提高腐殖质及胡敏酸的形成, 但二者的作用差别不大, 对于富里酸的形成也没有明显的作用。

表 1 不同培养条件下腐殖质含量的变化

时间 (d)	对照组						
	总碳(g·kg ⁻¹)	HE(g·kg ⁻¹)	HE 占总碳(%)	HA(g·kg ⁻¹)	HA 占总碳(%)	FA(g·kg ⁻¹)	FA 占总碳(%)
0	51.78 ± 2.15	2.58 ± 0.11	4.98	0.97 ± 0.09	1.87	1.61 ± 0.12	3.11
7	50.18 ± 2.05	2.69 ± 0.37	5.36	0.92 ± 0.30	1.83	1.77 ± 0.07	3.53
14	50.02 ± 1.95	2.87 ± 0.12	5.74	0.96 ± 0.07	1.92	1.91 ± 0.06	3.82
21	49.27 ± 1.02	2.98 ± 0.30	6.05	1.09 ± 0.20	2.21	1.89 ± 0.11	3.84
28	47.52 ± 1.09	3.24 ± 0.13	6.82	1.48 ± 0.12	3.11	1.76 ± 0.06	3.70
35	45.36 ± 2.31	3.47 ± 0.24	7.65	1.79 ± 0.19	3.95	1.68 ± 0.07	3.70
42	43.41 ± 2.53	3.21 ± 0.24	7.39	1.58 ± 0.14	3.64	1.63 ± 0.11	3.75
49	41.86 ± 1.58	3.12 ± 0.21	7.45	1.59 ± 0.13	3.80	1.53 ± 0.08	3.66
56	40.13 ± 1.67	2.98 ± 0.28	7.43	1.46 ± 0.14	3.64	1.52 ± 0.14	3.79

接种黄孢原毛平革菌组							
时间(d)	总碳(g·kg ⁻¹)	HE(g·kg ⁻¹)	HE 占总碳(%)	HA(g·kg ⁻¹)	HA 占总碳(%)	FA(g·kg ⁻¹)	FA 占总碳(%)
0	51.78 ± 2.15	2.58 ± 0.11	4.98	0.97 ± 0.09	1.87	1.61 ± 0.12	3.11
7	41.36 ± 2.34	2.98 ± 0.18	7.21	1.19 ± 0.30	2.88	1.79 ± 0.12	4.33
14	35.44 ± 2.15	3.87 ± 0.17	10.92	1.52 ± 0.24	4.29	2.35 ± 0.07	6.63
21	33.31 ± 1.56	4.59 ± 0.27	13.78	2.45 ± 0.39	7.36	2.14 ± 0.13	6.42
28	31.26 ± 1.69	5.12 ± 0.23	16.38	3.14 ± 0.31	10.04	1.98 ± 0.11	6.33
35	30.97 ± 1.45	6.11 ± 0.21	19.73	4.42 ± 0.22	14.27	1.69 ± 0.10	5.46
42	29.71 ± 2.64	5.85 ± 0.35	19.69	4.2 ± 0.23	14.14	1.65 ± 0.15	5.55
49	27.84 ± 2.05	5.54 ± 0.37	19.90	3.96 ± 0.41	14.22	1.58 ± 0.03	5.68
56	26.55 ± 1.95	5.37 ± 0.51	20.23	3.86 ± 0.46	14.54	1.51 ± 0.12	5.69

接种栗褐链霉菌组							
时间(d)	总碳(g·kg ⁻¹)	HE(g·kg ⁻¹)	HE 占总碳(%)	HA(g·kg ⁻¹)	HA 占总碳(%)	FA(g·kg ⁻¹)	FA 占总碳(%)
0	51.78 ± 2.15	2.58 ± 0.11	4.98	0.97 ± 0.09	1.87	1.61 ± 0.12	3.11
7	43.05 ± 2.05	3.57 ± 0.16	8.29	1.54 ± 0.08	3.58	2.03 ± 0.09	4.72
14	38.16 ± 2.14	4.38 ± 0.20	11.48	2.17 ± 0.16	5.69	2.21 ± 0.04	5.79
21	35.28 ± 1.93	5.13 ± 0.21	14.54	3.14 ± 0.27	8.90	1.99 ± 0.11	5.64
28	33.59 ± 1.64	6.19 ± 0.32	18.43	4.28 ± 0.28	12.74	1.91 ± 0.06	5.69
35	32.57 ± 1.54	6.08 ± 0.29	18.67	4.25 ± 0.39	13.05	1.83 ± 0.10	5.62
42	31.26 ± 1.13	5.97 ± 0.21	19.10	4.25 ± 0.30	13.60	1.72 ± 0.10	5.50
49	30.18 ± 1.02	5.63 ± 0.20	18.65	3.98 ± 0.27	13.19	1.65 ± 0.09	5.47
56	27.51 ± 0.99	5.46 ± 0.13	19.85	3.85 ± 0.12	13.99	1.61 ± 0.04	5.85

由表 1 中胡敏酸和富里酸的变化趋势可以看出,接种黄孢原毛平革菌组在培养初期 FA 含量变化不大,但在培养 7~14d 之间含量急剧增加,第 14d 含量达到 2.35g/kg,而 HA 含量在这段培养时间内变化很小。14d 后 FA 含量急剧下降,到后期下降趋势趋于缓和,而 HA 含量呈显著增加趋势,到后期趋于缓和。接种栗褐链霉菌组从一开始 FA 和 HA 含量就呈现明显的增加趋势,培养 14d 后 FA 含量达到 2.21g/kg,随后呈现降低趋势,但其降低速率低于接种黄孢原毛平革菌组。

2.3 不同培养条件下胡敏酸的百分含量 HP 及 E4/E6 的变化

腐殖质中胡敏酸的百分含量 HP(HP = HA/HE)在不同培养条件下的变化见图 2。对照组中 HP 先降低,随着培养时间的延长,HP 逐渐增加并趋于稳定,而接菌组中 HP 的总体变化趋势相似,在培养初期 HP 较低,随着培养时间的延长,HP 逐渐增加。然而接菌组的 HP 值在 7~14d 呈现明显的不同:接种黄孢原毛平革菌组的 HP 值从 39.93% 降到 39.28%,而接种栗褐链霉菌组的 HP 值在这段时间仍然呈现增加趋势,从 43.14% 增加到 49.54%。

胡敏酸 E4/E6 可以反映腐殖质分子中芳香环的缩合度、芳构化度和分子量的大小等^[15]。不同培养条件下 E4/E6 的变化见图 3。对照组中 E4/E6

的变化不大,而接菌组中 $E4/E6$ 呈增加趋势,其中接种黄孢原毛平革菌组在培养前期增加幅度较小,而接种栗褐链霉菌组在这段时间增加幅度较大,至培养结束后,接种黄孢原毛平革菌比接种栗褐链霉菌更能促进 $E4/E6$ 的增加。

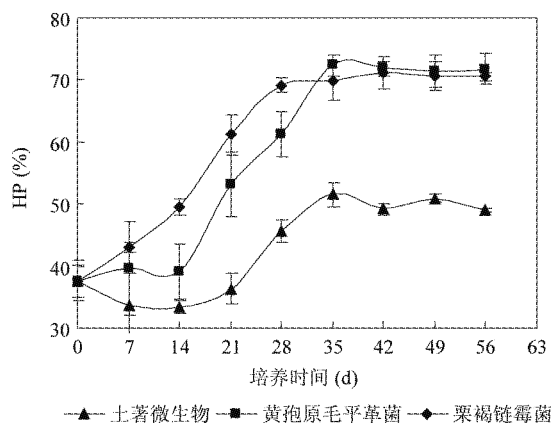


图 2 不同培养条件下 HP 的变化

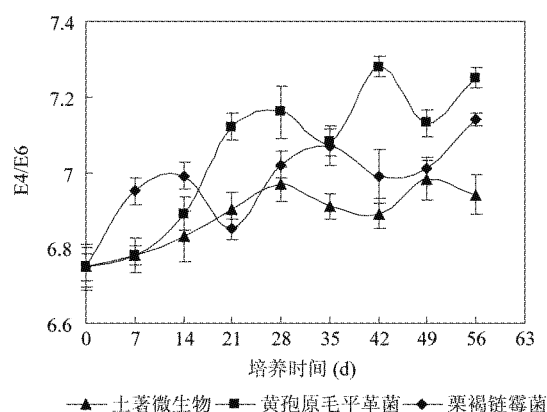


图 3 不同培养条件下胡敏酸的 $E4/E6$ 的变化

3 分析与讨论

3.1 不同木质素降解菌对木质素降解率的影响

由图 1 可知,接菌组中木质素降解发生的时间有所不同。这是因为真菌对木质素的降解发生在次级代谢阶段,而放线菌对木质素的降解则发生在初级代谢阶段。这与前人的研究一致^[16]。本研究由于土壤中含有一定量的易降解有机物,黄孢原毛平革菌首先利用这些易降解有机物维持自身的生长并合成一套木质素降解的酶系统,进行一系列酶催化和非酶催化的非特异性氧化还原过程降解木质素。而栗褐链霉菌等放线菌的木质素降解表现在初级代谢阶段,它们从一开始就能利用木质素,使木质素结构发生改性,从而使木质素得到部分降解。

3.2 不同木质素降解菌对腐殖质的影响

土壤腐殖质在土壤肥力和植物营养中具有重要的作用,腐殖质及其组分含量的多少,是土壤肥力高低的一项重要标志。研究结果显示(表 1),接菌组产生腐殖质的量明显高于对照组。这从一定程度上证明了腐殖质形成学说中的木质素学说。Fustec 等^[17]认为木质素和它的降解产物如酚型化合物、醌型化合物及脂肪族化合物是腐殖质形成的最主要的前体物质,它们通过一系列复杂的反应机制(各种酚型化合物的合成反应,上述化合物与含氮化合物如蛋白质、氨基酸、核酸等的结合反应,通过酶作用或自身作用的氧化反应)形成腐殖质。

由表 1 还可看出,尽管黄孢原毛平革菌对木质素的降解能力明显优于栗褐链霉菌,但经黄孢原毛平革菌处理后得到的腐殖质含量还稍稍低于栗褐链霉菌处理后得到的腐殖质含量。这可能是由于黄孢原毛平革菌对木质素的降解主要发生的是氧化反应,它能完全矿化木质素成 CO_2 。一般认为,木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶、漆酶和过氧化氢酶产生系统构成降解木质素的主要成分。由于酶的催化作用,木质素结构中的苯环发生单电子氧化反应形成氧自由基,随后发生一系列非酶催化的自由基反应而降解,其降解产物再经不同的代谢途径代谢形成 CO_2 ^[18]。而栗褐链霉菌主要是在一定程度上使木质素结构发生改性,从而增加水溶性产生一种被修饰过的水溶的可酸沉淀的多聚木质素,而很少将木质素矿化成 CO_2 。Ramachandra 等^[19]已证明这种多聚木质素是腐殖质形成的前体物质。由此可以看出,栗褐链霉菌对木质素的降解更有利于腐殖质的形成。

图 3 显示,经微生物作用后,土壤中胡敏酸的芳构化程度的总趋势均有所减弱,即胡敏酸的复杂结构相对降低,逐渐变为结构简单的胡敏酸,进一步变成分子量较小,结构更为简单的活性较强的富里酸,这样土壤的转化能力将增强,活化度提高,对养分的供贮能力增强,对土壤肥力有着积极作用。

3.3 不同木质素降解菌降解木质素形成腐殖质的途径

本研究表明,接种木质素降解菌有利于 HE 的形成,但由其中 HA、FA 的动态变化可看出,不同木质素降解菌降解木质素形成腐殖质的途径有所不同,即 HA、FA 形成的时间顺序以及形成后的转化机理有所不同。张晋京等^[20]认为 HP 随时间的动态变化能帮助解决上述问题。

由图2可知,接菌组的HP值在7~14d呈现明显的不同。其中接种黄孢原毛平革菌组呈现下降趋势,而接种栗褐链霉菌组呈现增加趋势。这是因为黄孢原毛平革菌对木质素的降解主要发生氧化反应,它能使稻草秸秆首先转化成分子量相对较小的富里酸或直接被分解为 CO_2 ,进而富里酸转化为胡敏酸。而栗褐链霉菌主要是在一定程度上使木质素结构发生改性,产生分子量相对较大的胡敏酸,而后转化为结构相对简单的富里酸。由表1中FA和HA的变化趋势同样可以说明黄孢原毛平革菌和栗褐链霉菌降解木质素形成腐殖质的途径有所不同。

4 结 论

接种木质素降解菌有利于土壤中腐殖质总量的形成,从而提高土壤肥力。而其中栗褐链霉菌对木质素的降解更有利于腐殖质的形成。

在木质素降解过程中,两种微生物降解木质素形成腐殖质的途径有所不同:黄孢原毛平革菌首先将木质素转化成分子量相对较小的富里酸或直接被分解为 CO_2 ,进而富里酸转化为胡敏酸;而栗褐链霉菌主要是在一定程度上使木质素结构发生改性,产生分子量相对较大的胡敏酸,后来转化为结构相对简单的富里酸。

因此,我们应充分发挥二者的优势,开发出既有利于木质素降解同时又能提高腐殖质产量的复合菌剂,从而应用到堆肥工艺中以加快腐殖化进程提高堆肥质量。

参考文献

- [1] Fan Y T, Zhang Y H, Zhang S F, et al. Efficient conversion of wheat straw wastes into biohydrogen gas by cow dung compost. *Bioresource Technology*, 2006, 97(3): 500-505
- [2] Tanahashi T, Murase J, Matsuya K, et al. Bacterial communities responsible for the decomposition of rice straw compost in a Japanese rice paddy field estimated by DGGE analysis of amplified 16S rDNA and 16S rRNA fragments. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2005, 51(3): 351-360
- [3] Zeng G M, Huang D L, Jiang X Y, et al. Composting of lead-contaminated waste with inocula of white-rot fungus. *Bioresource Technology*, 2007, 98(2): 320-326
- [4] 黄红丽, 曾光明, 黄国和等. 堆肥中木质素降解微生物对腐殖质形成的作用. *中国生物工程杂志*, 2004, 24(8): 29-31
- [5] Zheng Y G, Chen X L, Wang Z. Microbial biomass production from rice straw hydrolysate in airlift bioreactors. *Journal of Biotechnology*, 2005, 118(4): 413-420
- [6] 李学垣. 土壤化学. 北京: 高等教育出版社, 2001. 46-47
- [7] 黄丹莲, 曾光明, 黄国和等. 接种白腐真菌堆肥处理含Pb垃圾. *环境科学*, 2006, 27(1): 175-180
- [8] 来航线, 程丽娟, 王中科. 几种微生物对土壤腐殖质形成的作用. *西北农业大学学报*, 1997, 25(6): 79-82
- [9] Lopez M J, Vargas-García M C, Suárez-Estrella F, et al. Bidelignification and humification of horticultural plant residues by fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2006, 57(1): 24-30
- [10] 刘艳华, 魏颖, 李成等. 生活垃圾接种微生物堆肥对腐殖组分的影响. *东北农业大学学报* 2006, 37(1): 43-47
- [11] Wei Z M, Xi B D, Zhao Y, et al. Effect of inoculating microbes in municipal solid waste composting on characteristics of humic acid. *Chemosphere*, 2007, 68(2): 368-374
- [12] Kirk T K, Obst J M. Lignin determination. *Methods in Enzymology*, 1988, 161: 87-101
- [13] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析. 上海: 上海科学技术出版社, 1978. 136-140
- [14] 杨克莲, 陈甫华, 邵洪波等. 海河河口水体表层底质中腐殖质的提取及性能表征. *南开大学学报(自然科学)*, 1994, (4): 26-30
- [15] Gressel N, McGrath A E, McColl J G, et al. Spectroscopy of aqueous extract of forest litter: I. suitability of methods. *Soil Science Society of America Journal*, 1995, 59: 1715-1723
- [16] Tuomela M, Viikman M, Hatakka A, et al. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology*, 2000, 72(2): 169-183
- [17] Fustec E, Chauvet E, Gas G. Lignin degradation and humus formation in alluvial soils and sediments. *Applied and Environment Microbiology*, 1989, 55(4): 922-926
- [18] 冀玲芳, 石淑兰. 木质素的微生物降解. *广西轻工业*, 2002, (1): 4-5
- [19] Ramachandra M, Crawford D L, Hertel G. Characterization of an extracellular lignin peroxidase of the lignocellulolytic actinomycete *Streptomyces viridosporus*. *Applied and Environment Microbiology*, 1988, 54(12): 3057-3063
- [20] 张晋京, 窦森. 灼烧土中玉米秸秆分解期间胡敏酸、富里酸动态变化的研究. *吉林农业大学学报*, 2002, 24(3): 60-64

Research on the effects of two different ligninolytic organisms on humus formation

Huang Hongli^{*}, Liu Jianxiao^{***}, Yu Hongyan^{**}, Huang Danlian^{*}

Chen Furong^{*}, Wang Renyou^{*}, Xu Xiangmin^{***}, Zeng Guangming^{***}

(^{*} College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082)

(^{**} Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008)

(^{***} College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003)

Abstract

To study the effects of two different ligninolytic organisms, *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces badius*, on humus formation, the degradation rate of lignin, the amount of humic extrac(HE), humic acid(HA), fulvic acid(FA) and the *E4/E6* of HA were analyzed during an incubation process. The results show that the two lignolytic organisms can stimulate the degradation of lignin. The lignin degradation rate is only 10.56% in the control while those in the treatments *P. chrysosporium* and *S. badius* are 40.86% and 31.04%, respectively. It is also found that inoculating ligninolytic organisms significantly enhance the content of humus and the pathways of humus formation from lignin by the two inoculants are different. The maximum amounts of humus formed by *P. chrysosporium* and *S. badius* are 2.10 and 2.13 times that of the control, respectively. After the incubation, the *E4/E6* of HA increase, which indicates a reduction of the aromatization of HA.

Key words: *Phanerochaete chrysosporium*, *Streptomyces badius*, lignin, ligninolytic organism, humus