

微生物肥料研发与应用

WEISHENGWU FEILIAO YANFA YU YINGYONG



李博文 刘文菊 张丽娟 主编



 中国农业出版社

WEISHENGWU FEILIAO
YANFA YU YINGYONG

微生物

肥料研发与应用

李博文 刘文菊 张丽娟 主编

常州大学图书馆
藏书章

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物肥料研发与应用 / 李博文, 刘文菊, 张丽娟

主编. —北京: 中国农业出版社, 2016. 9

ISBN 978-7-109-21917-5

I. ①微… II. ①李… ②刘… ③张… III. ①细菌肥料—研究 IV. ①TQ446

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 167353 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码 100125)

责任编辑 孟令洋 郭晨茜

北京中兴印刷有限公司印刷 新华书店北京发行所发行

2016 年 9 月第 1 版 2016 年 9 月北京第 1 次印刷

开本: 880mm×1230mm 1/32 印张: 12.75

字数: 380 千字

定价: 35.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

《微生物肥料研发与应用》编委会

主 编 李博文 刘文菊 张丽娟

副主编 杨志新 陆秀君 邵立康

编著人员

第一章 李博文 李朝玉 (河北农业大学)

第二章 刘文菊 (河北农业大学)

第三章 陆秀君 (河北农业大学)

第四章 耿丽平 (河北农业大学)

第五章 邵立康 杨 威 (河北农业大学)

第六章 郭艳杰 薛培英 (河北农业大学)

第七章 王小敏 (河北农业大学)

第八章 李朝玉

刘 镇 (陕西枫丹百丽生物科技有限公司)

第九章 齐爱勇 陶 晔 (河北农业大学)

第十章 杨志新 (河北农业大学)

第十一章 刘春敬 (河北农业大学)

第十二章 张丽娟 (河北农业大学)

王 凌 (河北省农林科学院)

第十三章 吉艳芝 (河北农业大学)



前 言

众所周知，我国用世界 7% 的耕地养活了占世界 22% 的人口，创造了世界奇迹。同时，我国投入了占世界 35% 以上的化肥、农药等化学品，也是不可否认的事实。长期过量施用化肥，已引起化肥报酬锐减。近 30 年化肥报酬递减了 50%~60%，化肥增产已接近极限。并且，导致了土壤肥力退化，面源污染凸现，已直接危及粮食、食品和生态“三大安全”。过度依赖化肥的传统农业不堪重负、难以为继，研发绿色环保肥料，推广安全高效施肥，开辟可持续发展道路，已刻不容缓。

19 世纪下半叶，以法国微生物学家巴斯德为代表的一批学者，在微生物学研究领域取得了重要成果，促进了农业微生物的研究、应用与发展，具有固氮、溶磷、解钾等功能的微生物肥料随之应运而生。土壤微生物学的奠基人——法国微生物学家 C. H. 维诺格拉茨基 1890 年在分离培养硝化细菌时，发现了自生固氮细菌，开创了微生物制剂研究的先河；1896 年诺布尔销售专利商品根瘤菌剂。大量试验表明，微生物肥料具有活化养分、调节促生、拮抗病菌、降解污染、改善环境等传统肥料不具有的特殊作用，可促进增产 20% 及减施 20% 的化肥、农药，是发展生态农业、绿色农业、有机农业，确保“三大安全”的理想肥料。

近年来，我国微生物肥料产业发展迅猛，微生物肥料企业近 1 000 家，遍布全国 30 多个省、自治区、直辖市。在农业部登记的产品有固氮菌剂、硅酸盐菌剂、溶磷菌剂、光合菌剂、

有机物料腐熟剂、复合菌剂、微生物产气剂、农药残留降解菌剂、水体净化菌剂、土壤生物改良剂（生物修复剂）、生物有机肥和复合微生物肥料，年产能已突破 1 000 万 t，应用面积超过 $1.3 \times 10^7 \text{ hm}^2$ ，涉及粮食、蔬菜、果树、中草药和烟草等作物，开辟了推进农业产出高效、产品安全、资源节约、环境友好的新途径。随着现代农业的发展，微生物肥料需求将与日俱增，发展应用前景十分广阔。

微生物资源开发应用潜力巨大。据估测，全球有微生物 100 万种以上，迄今已被发现的微生物大约 10 万种，已被开发利用的微生物 1 000 种左右，仅占已被发现微生物的 1%；被开发应用为微生物肥料的有效菌只有 150 多种，只占已发现微生物的 0.15%。目前，我国畜禽粪便年产量超过 $4 \times 10^9 \text{ t}$ ，农作物秸秆年生产量近 $7 \times 10^8 \text{ t}$ ，可开发生物有机肥的资源相当丰富。而迄今微生物肥料的年产量不到 1 000 万 t，微生物肥料生产的现用量不到 0.03%。可见，微生物肥料生产，不仅原料资源丰富，而且就地取材、成本低廉，可推动农业持续高效发展。我国正在实施化肥和农药减施增效专项行动，微生物肥料将成为实现化肥和农药零增长的重要措施。主动担当引领微生物肥料研发应用的重任，已成为土壤肥料科技工作者义不容辞的责任。

在河北省农业厅、财政厅的大力支持下，我们借助承担的河北省现代蔬菜产业技术体系“安全高效施肥用药”的专家岗位，组织相关学院、科研单位和企业的科技骨干，构建了安全高效施肥协同创新团队，集聚了资源环境学科的一批专家教授，承担了国家和河北省“农业面源污染治理”“设施蔬菜高效施肥”等课题的系列研发任务，同时与相关企业合作研发了微生物菌剂、生物有机肥等系列微生物肥料产品，开展了较为深入的集成研发与示范。为了系统总结微生物肥料的研究应用成果，

编写了《微生物肥料研发与应用》一书。

本书系统分析了微生物肥料的研发应用背景、现状和前景；讲述了功能菌的筛选鉴定、繁育保藏和提纯复壮；介绍了农用微生物菌剂、生物有机肥和复合微生物肥料的生产工艺技术；明确了不同微生物肥料的功能特点、应用要领和推广途径；阐明了微生物肥料的应用要求、试验设计与效果评价方法。既有先进的科学理论依据，又有成熟、简便、实用的技术方法。为便于应用掌握，一是注重技术的先进性。系统分析了微生物肥料的研发应用背景和发展方向，以及对功能菌株的筛选鉴定、繁育保藏和提纯复壮，力求紧跟国际学术前沿，引进先进手段、技术和方法。二是突出技术的实用性。重点介绍了不同微生物肥料产品的生产工艺流程、技术参数、先进装备及其调控技术规程，操作简便易行、实用性强。三是坚持技术的规范性。依据国家、行业相关标准，重点介绍了不同种类微生物肥料的质量要求与检测、应用试验设计与效果评价，技术指标权威，采用方法规范。本书适于农业教学、科研、生产和推广人员，可用于指导微生物肥料的研究与应用，具有较高的实用价值。

在编写过程中，得到了河北农业大学、河北省农林科学院、北京市农林科学院、河北闰沃生物技术有限公司、河北民得富生物技术有限公司等单位领导和同志们的大力支持与帮助，参考了相关学者的大量文献，在此一并表示衷心感谢！

由于编者水平所限，书中疏漏、缺陷在所难免，敬请广大读者批评指正。

编 者

2016年4月8日



目 录

前言

第一章 绪论	1
第一节 微生物肥料的研究与应用背景	1
一、微生物肥料的概念与种类	1
二、微生物肥料是推进可持续发展的迫切需要	5
三、微生物肥料符合国家支持发展的战略重点	11
四、我国微生物肥料的发展现状	14
第二节 微生物肥料的研究动态	18
一、国际微生物肥料研究进展	18
二、微生物肥料研究趋势	21
三、微生物肥料研究的热点问题	24
第三节 微生物肥料应用的功能效果与发展前景	27
一、微生物肥料应用的功能效果	27
二、微生物肥料应用的发展前景	32
第二章 肥用功能菌的筛选与鉴定	37
第一节 肥用功能菌概述	37
一、肥用功能菌的概念	37
二、常用功能菌的种类特征	37
三、肥用功能菌的作用机理	45
第二节 肥用功能菌的分离筛选	50
一、自然界微生物的分离与计数	50
二、肥用功能菌的分离筛选	61
第三节 肥用功能菌的传统鉴定方法	66

一、细菌的鉴定	66
二、放线菌的鉴定	87
三、真菌的鉴定	89
第四节 肥用功能菌的现代鉴定方法	89
一、仪器自动化鉴定	89
二、分子生物学鉴定	92
第三章 肥用功能菌的繁育与保藏	96
第一节 功能菌种的自然选育	96
一、形态、色素、酶活性和拮抗性 etc 特性变异菌株的筛选	97
二、发酵特性变异菌株的筛选	97
三、营养缺陷型变异菌株的筛选	98
第二节 功能菌种的诱变选育	101
一、出发菌株	102
二、诱变剂	102
第三节 肥用功能菌的繁育	108
一、培养步骤 (以细菌为例)	109
二、常用培养基	111
三、培养方式	116
第四节 肥用功能菌的保藏	118
一、常用菌种保藏方法概述	119
二、常规菌种保藏方法实验	121
三、菌种保藏注意事项	127
四、国内外菌种保藏机构	128
第四章 肥用功能菌的提纯与复壮	134
第一节 肥用功能菌的退化	134
一、菌种退化的概念	134
二、菌种退化的原因	136
三、菌种退化的判断	139
四、菌种退化的防控	140
第二节 肥用功能菌的纯化	142

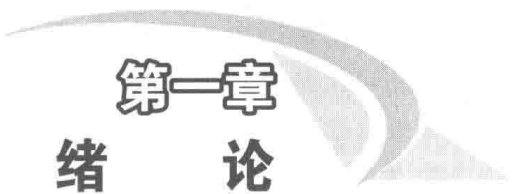
一、肥用功能菌的分离纯化	142
二、微生物的培养	150
三、分离培养真菌的注意事项	155
第三节 肥用功能菌的常规复壮	157
一、菌种复壮的概念	158
二、菌种复壮的方法	158
三、菌种复壮技术	160
第四节 肥用功能菌的特性复壮	160
一、耐温度培养	161
二、耐酸碱培养	162
三、耐盐性培养	163
四、耐缺氧培养	163
五、氮源培养试验	165
六、碳源培养试验	166
第五章 农用微生物菌剂生产技术	167
第一节 微生物菌剂生产工艺	167
一、发酵工艺	167
二、后处理工艺	172
三、产品处理与管理工艺	178
第二节 液体发酵系统及其调控操作	179
一、液体发酵罐	179
二、无菌空气系统	186
三、循环水冷却系统	194
四、发酵工艺管道系统	196
第三节 微生物液体深层发酵	200
一、灭菌	200
二、保压操作过程控制	205
三、接种与倒种操作过程控制	205
四、升温与降温操作过程控制	207
五、高效过滤器消毒过程控制	207

第六章 生物有机肥生产工艺	209
第一节 有机物料腐熟加工工艺	210
一、有机物料堆腐工艺	210
二、堆腐发酵条件调控	212
三、先进适用的堆腐方法	217
四、腐熟质量要求与检测	222
五、腐熟有机物料的粉碎	225
第二节 肥用功能菌的添加工艺	225
一、粉剂功能菌添加工艺	225
二、颗粒剂功能菌添加工艺	226
三、肥用功能菌添加工艺技术要求	227
四、肥用功能菌添加工艺条件控制	228
第三节 生物有机肥造粒与产品后处理	229
一、产品造粒	229
二、产品后处理	230
第七章 复合微生物肥料生产工艺	231
第一节 复合微生物肥料的概述	231
一、复合微生物肥料的定义	231
二、复合微生物肥料的组成	231
三、复合微生物肥料的特点	232
第二节 复合微生物肥料复配工艺	233
一、复合与剂型	233
二、设计生产方案	234
三、复配生产工艺	236
四、造粒工艺	238
第三节 复合微生物肥料生产工序与设备	238
一、主要生产工序	238
二、设备选型	241
第八章 微生物肥料产品的质量检验	247
第一节 微生物肥料产品质量要求	247

一、农用微生物菌剂产品的质量要求	247
二、生物有机肥产品的质量要求	249
三、复合微生物肥料产品的质量要求	250
第二节 微生物肥料产品外观与技术指标检验	251
一、抽样方法	251
二、检验方法	251
第三节 微生物肥料产品无害化指标检验	258
一、抽样方法	258
二、检验方法	258
第四节 微生物肥料产品的检验规则	264
一、检验分类	264
二、判定规则	264
第九章 微生物肥料的推广应用	265
第一节 微生物肥料应用的主要特点	265
第二节 微生物肥料示范推广的要领	270
一、正确认识微生物肥料有无效果	270
二、全面认识微生物肥料的功能效果	272
三、准确把握微生物肥料的应用要领	273
四、注意了解微生物肥料的应用要求	275
第三节 微生物肥料推广的有效途径	278
一、推进微生物肥料科学普及	279
二、推进协同创新试验示范	279
三、推进化肥和农药减施增效	280
四、推进传统施肥方式转变	280
五、推进废弃物资源化循环利用	280
第十章 微生物肥料应用与评价的要求	282
第一节 微生物肥料应用出现的问题	282
一、对微生物肥料的认识存在误区	282
二、微生物肥料产品存在问题	284
三、微生物肥料评价亟待加强	286

第二节 微生物肥料应用与评价的常用概念	287
一、产品的有关概念	287
二、菌种的有关概念	288
三、培养基的有关概念	289
四、灭菌的有关概念	290
五、产品生产的有关概念	290
六、质检的有关概念	291
七、试验设计的有关概念	292
第三节 微生物肥料应用与评价的主要依据	292
一、功能菌株评价的主要依据	293
二、微生物肥料产品评价的主要依据	295
三、微生物肥料安全性评价的主要依据	296
四、微生物肥料应用效果评价的主要依据	303
第四节 微生物肥料应用与评价的基本原则	304
一、产品质量评价的基本原则	305
二、试验设计的基本原则	305
三、推广应用的基本原则	307
四、效果评价的基本原则	309
第十一章 微生物肥料应用试验设计	311
第一节 微生物菌剂应用试验设计与统计分析	311
一、试验设计概述	311
二、试验方案设计	312
三、试验布置方法设计	319
四、不同试验设计的统计分析	324
第二节 生物有机肥和复合微生物肥料应用试验设计	328
一、试验方案设计	328
二、试验布置方法设计及其统计分析	330
第三节 有机物料腐熟剂应用试验设计	340
一、常见应用试验方案	340
二、有机物料腐熟剂应用试验设计案例分析	342

第十二章 微生物肥料的应用效果评价	344
第一节 微生物肥料的效应机理	344
第二节 微生物肥料的增产效果评价	348
一、增产效果评价方法	348
二、不同作物的增产效果	348
第三节 微生物肥料的品质效果评价	353
一、外观品质的评价	353
二、内在品质的评价	353
第四节 微生物肥料的抗逆性与安全性效果评价	357
一、抗逆性效果评价	357
二、安全性效果评价	357
第十三章 有机物料腐熟剂的应用效果评价	364
第一节 有机物料腐熟剂的促腐效果评价	365
一、用于堆肥的促腐效果评价	365
二、用于秸秆还田的促腐效果评价	367
第二节 有机物料腐熟剂的培肥效果评价	370
一、改善土壤生物学性质	371
二、改善土壤化学性质	372
三、改善土壤物理性质	374
第三节 有机物料腐熟剂的环境效应评价	374
一、抗逆性评价	374
二、安全性评价	375
主要参考文献	376



第一章 绪 论

第一节 微生物肥料的研究与应用背景

一、微生物肥料的含义与种类

(一) 微生物肥料的含义

我国土壤微生物学的奠基人、中国科学院院士、华中农业大学教授陈华癸指出，微生物肥料是指一类含活性微生物的特定制品，应用于农业生产，能获得特定的肥料效应。在其效应产生的过程中，制品中活性微生物发挥着关键作用。根据国家标准《GB 20287—2006 农用微生物菌剂》规定，微生物肥料是指含有特定微生物活体的制品，应用于农业生产，通过所含微生物的生命活动，增加植物养分的供应量或促进植物生长，提高作物产量，改善农产品品质及农业生态环境。

(二) 微生物肥料的种类

按照微生物肥料的有效菌和物质构成，根据我国微生物肥料的产品标准，将微生物肥料分为农用微生物菌剂、复合微生物肥料和生物有机肥三大类。

1. 农用微生物菌剂 指有效菌经发酵工艺扩繁制成发酵液后，浓缩加工成的液体活体菌剂，或以草炭、蛭石等多孔载体物质作为吸附剂，吸附菌体而成的粉剂和颗粒菌剂制品。它具有直接或间接改良土壤、恢复地力、维持根际微生物区系平衡、降解有毒有害物质等功能，通过其中所含有有效菌的生命活动，在应用中发挥增强植物养分供应、促进植物生长、改善农产品品质及农田生态环境等

作用。

2. 复合微生物肥料 指有效菌与营养物质复合而成，能提供、保持或改善植物营养，提高农作物产量或改善农产品品质的活体微生物制品。这类微生物肥料除了含有效微生物外，还含有一些营养物质，兼具微生物菌剂和无机肥的肥料效应。

3. 生物有机肥 指主要以畜禽粪便、农作物秸秆等动植物残体为原料经无害化处理、腐熟制备成的有机物料，与有效菌复合而成的肥料产品。它是一类兼具微生物菌剂和有机肥效应的肥料。

（三）常见微生物菌剂

微生物菌剂根据其功能特性可分为根瘤菌剂、固氮菌剂、溶磷菌剂、硅酸盐菌剂、光合菌剂、有机物料腐熟剂、促生菌剂、复合菌剂、菌根菌剂和生物修复菌剂 10 个品种，常见的有以下几种产品。

1. 根瘤菌剂 它是将豆科作物根瘤内的根瘤菌分离出来，加以选育繁殖制成的产品。它是迄今研究最早、应用最广泛、效果最稳定的微生物肥料。研究和应用的主要根瘤菌剂是花生根瘤菌 (*Bradyrhizobium* sp.)、大豆根瘤菌 (*B. Japonicum*)、豌豆根瘤菌 (*Rhizobium leguminosarum*)、苜蓿根瘤菌 (*R. meliloti*)，利用根瘤菌与豆科植物共生，使植物根毛弯曲而形成根瘤来进行固氮作用。近年来，从花生、大豆、绿豆、牧草、羽扇豆、金合欢、紫穗槐等植物的根瘤菌中选育出许多优良菌种，并已生产出多种根瘤菌肥。实践证明，根瘤菌的作用效果显著，但根瘤菌只与豆科植物结瘤共生，而且根瘤菌的菌株只能感染一定的豆科植物，共生关系具有专一性。

根瘤菌剂还包括复合根瘤菌剂，指以根瘤菌为主，加入少量能促进结瘤、固氮作用的芽孢杆菌、假单胞细菌或其他有益的促生微生物的根瘤菌肥料，称为复合根瘤菌剂。适宜于中性和微碱性土壤，多用于拌种；主要用于豆科作物接种，使豆科作物结瘤固氮。

2. 固氮菌剂 它是指由能自由生活的固氮微生物为菌种生产出来的菌剂。它含有大量好气性自生固氮菌，不与高等植物共生，

能独立生存于土壤，固定空气中的 N_2 ，利用土壤中的有机质或分泌物作为碳源，将其转化为植物可利用的化合态氮素。按其菌种及特性分为：自生固氮菌，如固氮菌属 (*Azotobacter* sp.)、固氮单胞菌属 (*Azomonas* sp.)；根际联合固氮菌，如巴西固氮螺菌 (*Azorhizobium brasilense*)、阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 等。固氮菌剂适于中性或微碱性土壤，酸性土可用石灰调节酸碱度后施用；适用于各种作物，特别是禾本科作物和蔬菜中的叶菜类作物，常用作拌种，可作基肥、追肥；不宜与过酸、过碱肥料或杀菌农药混施。

3. 硅酸盐菌剂 它主要是利用硅酸盐细菌，如胶质芽孢杆菌等有效菌制成的活体微生物制品。它是从土壤中分离出的一种细菌，能够分解伊利石、钾长石、磷灰石等不溶性的硅铝酸盐无机矿物质，促进难溶性的 K、P、Si 等养分元素转化成可溶性养分，增加土壤中速效养分的含量。硅酸盐细菌又称为钾细菌，是目前微生物肥料中广泛应用的一种重要功能菌。大田试验证明，它能在种子或作物根系周围迅速增殖形成群体优势，分解硅酸盐类矿物并释放出 K 等元素供植物利用，同时具有固氮和解磷功能。已有研究表明，钾细菌有较强的解钾能力，用其制成菌肥可转化土壤中的无效钾为有效钾，并可刺激作物对土壤中各种营养元素的吸收。固氮菌和钾细菌混用效果更为理想。硅酸盐菌剂适于作基肥，与有机肥混施覆土；也可用于拌种，加适量水制成悬液喷在种子上拌匀；还可用于蘸根，蘸后立即栽植避免阳光直射。

4. 溶磷菌剂 它是既能把土壤中缓效态的磷转化为能被作物直接吸收利用的有效态磷，又能分泌激素刺激作物生长的活体微生物制品。溶磷菌能利用微生物在繁殖和代谢过程中产生的乳酸、柠檬酸等低分子有机酸和植酸酶类物质，使固定在土壤中的无机磷酸盐溶解、有机磷酸盐矿化或将难溶性磷酸盐类变成可溶性磷，供植物吸收利用。如芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、AM 菌根菌、节杆菌属 (*Arthrobacter* spp.)、胞杆菌属 (*Bacillus* spp.)、氧化硫硫杆菌 (*Thiobacillus thiooxidans*)。其