

磷細菌肥料的土法 生产和应用

山东农学院

农业出版社

磷细菌肥料的土法生产和应用

山 东 农 学 院

农 业 出 版 社 出 版

北京朝内大街130号

(北京市书刊出版业营业许可证出字第106号)

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

农业出版社印刷厂印刷装订

统一书号 16144.1612

1973年2月北京制型

开本 787×1092毫米

1973年2月初版

三十二分之一

1973年2月北京第一次印刷

字数 20千字

印张 一

印数 1—28,000册

定价 八分

写在前面

在毛主席无产阶级革命路线指引下，我们伟大的祖国欣欣向荣，蒸蒸日上。社会主义农业建设和其他各条战线一样，形势一派大好。

遵照毛主席“教育必须为无产阶级政治服务，必须同生产劳动相结合”的教育方针，坚决走“五·七”指示的道路，实行开门办学，为农业生产服务，我们从1971年春开展了磷细菌的研究工作，以解决土壤中磷肥供应问题，进一步提高单位面积产量。我们首先通过田间试验肯定了磷细菌肥料在我省土壤气候条件下，在各主要作物上施用的效果。同时，在我省各地采集了各类土壤样品开始了以筛选无机磷新菌种为重点的菌种筛选工作，并结合进行了生产工艺的试验工作。一年来初步选出转化力较强的无机磷细菌和有机磷细菌各三株，分别摸索出一套土法生产磷菌肥的液体培养和固体培养的工艺流程。

为了供各地磷细菌肥料的土法生产和应用的参考，我们编写了这本小册子。但由于我们的研究工作还刚刚开始，工作中存有不少缺点，对群众经验总结学习也不够。因此这本小册子必然还有缺点和不妥之处，我们诚恳地希望广大工农兵和兄弟单位批评指正。

我们相信在广大工农兵和科技人员的共同努力之下，磷

细菌肥料的土法生产和应用,一定会日趋完善,在社会主义农业建设中发挥它应有的作用。

山东农学院

一九七二年七月

目 录

一、磷细菌肥料的作用和意义	1
(一) 磷素和植物生长	1
(二) 土壤中的磷素资源	2
(三) 磷细菌肥料的作用	3
(四) 磷细菌肥料的效果	3
二、磷细菌肥料的土法生产	7
(一) 菌种	7
1. 无机磷细菌“83—2”	7
2. 生产用斜面菌种的制备	8
(二) 扩大培养	10
1. 液体扩大培养	10
2. 固体扩大培养	15
三、质量检查和产品检验	18
1. 生产过程中的质量检查	18
2. 产品检验	20
四、磷细菌肥料的使用方法和注意事项	21
五、讨论	22
六、附录	23

一、磷细菌肥料的作用和意义

(一) 磷素和植物生长

磷素和氮素一样是植物生长不可缺少的营养元素之一，植物体内的核蛋白、磷脂和植酸等化合物都含有磷。

核蛋白是细胞核的主要成分，磷脂（如卵磷脂）是原生质的重要组成部分。缺少磷素则要影响到细胞的分裂，进而影响植物的生长发育，特别对植物的分生组织影响很大。

植酸在植物体内常和钙镁结合为盐类，称为植素，大量储存于种子中。当植物发芽时，种子中储存的磷素渐次转移到新生细胞中，对植物的发芽、生根影响很大，此时，若土壤中不能继续为植物提供磷素营养，则细胞的形成就会受到限制，进而影响到根的生长。所以在植物苗期提供磷素营养特别重要。

磷素能促进植物体内醣类化合物的运输和淀粉的转化，对油脂代谢也有很大关系。

所以增施磷肥可以促进植物根系生长，次生根增多，提高植物对养分的吸收能力，增强植物的耐寒、耐旱和耐盐的作用。对禾谷类作物，能增加分蘖数，增加有效穗数，并使每穗粒数增多，千粒重增加；对移栽作物能提早生根返秧，提高成活率，也有防倒伏的作用；对油料作物，能提高含油量；对多种果实能提高品味。由于磷素能促进植物体内许多代谢作用，促进

生长发育,因此能使植物整个发育时间缩短,提早成熟。

(二)土壤中的磷素资源

土壤中的磷素按其能否为植物吸收利用的情况,可分为有效态的和无效态的两类;按其化合状态也可分两类,一为无机态的(无机化合物状态的),一为有机态的(有机化合物状态的)。无机态的主要以磷灰石状态广泛分布在土壤中,约占全磷量的40—75%;有机态的主要是核蛋白、卵磷脂、植素等有机化合物,约占全磷量的25—60%。也就是说土壤中有有机质少的,无机态磷则要多一些;土壤中有有机质多的,无机态磷则相对地要少一些。但从总的情况来看,除土壤中有有机质特别多的以外,土壤中无机态磷要比有机态磷多一些。

土壤中的磷素,主要来自于土壤母质、生物遗体和施用的肥料。土壤中磷素的总量一般为0.05—0.20%,例如华北石灰性土壤含磷量为0.12—0.16%,此数看来虽小,若换算成一亩农田耕层中的磷素含量,则有数百斤之多,而每亩产粮食四、五百斤仅需磷素五、六斤,所以这个数字实际并不算少。但是这些磷素并不能完全为庄稼吸收利用,庄稼可能吸收利用的仅是其中可溶的那部分,称之为有效磷。这部分有效磷仅是全磷量的1%左右,具体来说一亩农田的耕层中有效磷的含量一般在1—7.5斤范围之内,而多数是2—4斤左右。绝大部分的磷素仍固定在土壤中不能发挥其应有的作用。这部分磷素称之为无效磷。

当前农业生产的形势越来越好,单位面积的产量不断提

高，磷肥的供应已跟不上形势发展的需要，特别是在氮肥供应比较充足的地方，磷肥更感不足。因此迫切需把埋藏在土壤中占土壤全磷量的99%的这部分无效磷转化出来，为我们社会主义农业建设服务。

(三) 磷细菌肥料的作用

磷细菌肥料就是能把土壤中的无效磷转化为有效磷的一种微生物制剂。它本身不含有庄稼所需要的养料，但它可转化土壤中无效磷为有效磷。磷细菌包括两类细菌：一种是转化无机态的无效磷为有效磷的无机磷细菌，其作用主要是借助于细菌生命活动过程中所产生的酸对无机磷的溶解作用；另一种是转化有机态的无效磷为有效磷的有机磷细菌，其作用主要是借助于细菌生命活动过程中所产生的酶，对有机磷的分解作用。所以无效磷转化为有效磷的作用都是细菌生命活动的结果，因此，田间效果的大小，主要取决于磷细菌的生命力和所产生的酸(酶)的数量及强度(种类)。

(四) 磷细菌肥料的效果

我们1971年春开始磷细菌的研究工作时，为了首先明确其在我省土壤气候条件下的效果，我们于夏播时使用引进来的有机磷老菌种进行田间肥效鉴定试验。同时据以往的资料报导，磷细菌肥料混以固氮菌肥会提高效果，因此在另一个试验的处理中增设混用固氮菌的处理，结果见表一。

表一 磷细菌肥料和混用固氮菌肥料的田间肥效鉴定试验

1971 年

试验单位	作物	处 理	小区产量 (斤)			平均折合亩产 (斤)	增产 (%)	注
			重复一	重复二	重复三			
山东农学院	玉米	对 照	33.2	28.2	26.7	573.0	—	小区面积 0.05亩
		磷细菌肥料	33.7	34.2	29.7	634.0	10.7	
山东临沂地区农科所	大豆	对 照	4.1	4.4	4.6	218.3	—	实收面积 0.02亩
		磷细菌肥料	4.8	4.9	5.8	258.3	18.2	
		磷细菌+固氮菌	5.9	4.9	5.5	271.6	24.4	

1971年秋播时又用刚刚筛选出来的新菌种进行了田间肥效鉴定试验,并增设混用固氮菌的处理,结果见表二。

表二 不同磷细菌菌种混用固氮菌对小麦的肥效试验

(山东农学院滕县基点1972年6月)

处 理	基本苗 (万/亩)	分 蘖 (每株)		穗 数 万/亩	粒 数 (每穗)	千粒重 (克)	产 量 (斤/亩)	增 产 %	注
		冬前	冬后						
无机磷细菌+固氮菌	21.2	4.1	4.6	56	23.6	35.2	930.4	27.6	
无机磷细菌	17.7	4.0	5.0	45	26.4	36.6	869.6	19.4	
有机磷细菌+固氮菌	19.3	4.3	4.6	52	27.0	35.0	982.8	34.8	
有机磷细菌	17.5	4.0	5.1	56	23.8	34.8	926.8	27.1	此有机磷 新菌种兼有 无机磷细菌 的作用
对 照	27.6	2.4	2.9	45	23.4	34.6	728.6	—	

与此同时,在全省各地进行了无机磷新菌种、有机磷新菌种、有机磷老菌种和固氮菌四种菌种混合的磷细菌混合肥的大田示范试验,据由全省各地所得的 65 份有效的小麦田间肥效鉴定试验结果,均获得不同程度的增产,其中有 41 例(占总

数63%)获得10%以上的增产效果,见表三。平均增产15.86%。

表三 磷细菌混合菌肥小麦田间肥效鉴定增产幅度比数

增 产 率 (%) 幅 度	5 以下	5—10	10—20	20—30	30以上
增 产 点 数	4	20	23	12	6
占 65 个 点 的 比 数 (%)	6.2	30.8	35.4	18.5	9.2

据调查,其效果主要表现在小麦越冬前根系便生长得比较发达,次生根增多,分蘖也多,越冬后更加明显,在抽穗后表现为穗多、穗齐、穗大,平均每亩增加3.4万穗,每穗粒数能增加2.1粒,千粒重约增加1.86克,植株略高,并有一定的抗倒伏作用,成熟提早1—2天,在高产田和低产田均能获得同样的效果。在不同土壤上,例如黄土、红土、黑土、两合土等,也都能获得肯定的效果,特别在缺磷的土壤中效果更为明显。此外,据反映,也有减轻小麦芦渣病和全蚀病的效果。

1972年春又用新筛选出来的无机磷和有机磷两种新菌种制成的菌肥进行了春播作物的试验。截至6月底所得到的材料证实,磷细菌肥料对水稻育秧也有良好的效果,见表四。

此外在棉花、玉米、谷子、高粱等作物的苗期均有良好的反应,对马铃薯、豌豆也有增产作用。

据以上的初步结果看,磷细菌肥在各种土壤上对多数作物均有良好的作用和效果。由于磷细菌肥料的生产比较简单,原料丰富,使用方便,成本低廉,所以深为广大贫下中农所欢迎,是解决当前磷肥不足的一条多快好省的新途径。

表四 磷细菌肥料对水稻育秧的效果调查

1972年6月

试 验 单 位	处	秧 龄 (天)	苗 色	株 高 (厘米)	叶			根 系		平 均 分 蘖	调 查 日 期	注
					数 (个)	长 (厘米)	宽 (厘米)	数 (个)	长 (厘米)			
鱼台县王鲁公社碌碡屯大队	对	23	黄绿	5.6		5.6	2.3	8.2	11.1		9/5	10株平均已有3株分蘖
	磷细菌肥	23	深绿	6.5		6.3	3.4	11.2	14.4		9/5	
临沂县独树头褚庄六队	对	27	黄绿	14.3	2.9			0.9	5.9		25/5	面积1.5亩 用量3斤/亩
	磷细菌肥	27	深绿	16.5	3.2			2.9	7.1		25/5	
郯城县马头公社梁庄大队	对	40		20.0				19.0	8.0	1.16	30/5	面积0.1亩 重复2次
	磷细菌肥(1两)	40		24.0				24.7	15.0	3.00		
	过磷酸钙(1斤)	40		22.0				17.5	6.5	1.50		
	饼粉(3斤)	40		16.5				15.3	8.0	—		

二、磷细菌肥料的土法生产

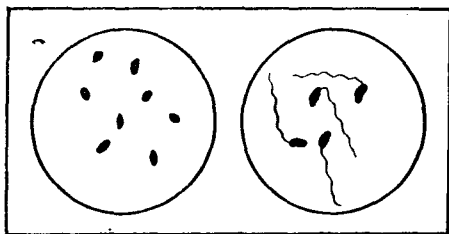
(一) 菌 种

菌种的好坏是提高生产效率,保证田间效果的基本条件,所以筛选、培育适合当地条件的高效能新菌种,并保持其优良特性,防止衰退,是微生物学的理论研究和实践工作中的基本任务之一。因此我们在工作的开始便着手搜集原有老菌种,并在全省采集了各类土壤样品160余个,以无机磷细菌为重点进行了筛选高效能新菌种的工作。经鉴定,无机磷细菌以“83—2”、“54—1”、“7—1”三株转化力较强,而以“83—2”表现最好;有机磷细菌以“21—4”、“39—3”、“4—2”三株转化力较强。现重点介绍无机磷细菌“83—2”如下:

1. 无机磷细菌“83—2”

(1) 形态和生理特征:

这是在1971年秋,从山东益都城郊黄土中分离出来的一种无芽孢极毛杆菌,菌体很小,形状两头略尖, $0.7-1.5 \times 0.4-0.6$ 微米,长度不十分整齐,格兰母氏染色负反应,能运动。用鞭毛染色法染色,可见到在一端长有一条很长的鞭毛(图一)。渐老则鞭毛脱落,运动减弱到停止。据温箱培养试验,该菌适宜温度 $28-37^{\circ}\text{C}$,最适为 35°C ,培养基 pH 值(酸碱度) $5.4-8.0$,最适 pH 值为 $7.0-7.8$ 。



一般所见的菌体 鞭毛染色法染色后的菌体

图一 无机磷细菌“83—2”的形态

(2) 培养特征:

①牛肉膏、蛋白胨培养基:

Ⅰ. 平板培养: 菌落圆形, 表面隆起, 光滑有光泽, 边缘整齐, 开始无色透明, 呈水渍状, 培养时间稍长呈半透明至不透明, 菌落由水渍状逐渐变混浊, 呈乳白色。

Ⅱ. 斜面培养: 乳白色, 边缘整齐, 有光泽, 不透明。

Ⅲ. 液体培养: 培养12小时左右培养基由清变为混浊, 表面产生一层薄膜。

②马铃薯、葡萄糖培养基:

菌苔较厚, 油脂状, 乳白色, 表面有光泽, 不透明。

(3) 磷细菌合成培养基(磷酸三钙):

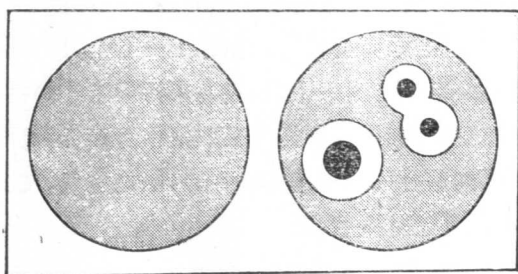
菌苔薄, 无色透明, 培养时间稍长, 菌苔稍呈乳白色, 培养基由不透明变透明。

在平板上菌落周围有溶解圈, 说明磷矿粉被溶解(图二)。

2. 生产用斜面菌种的制备

(1) 斜面的制备:

无机磷细菌和有机磷细菌使用成分相同的斜面培养基,



接种前的平板
培养基不透明

接种后菌落周围有培
培养基呈透明的溶解圈

图二 无机磷细菌平板培养后产生的溶解圈

取未发芽的马铃薯，洗净去皮，切成豆粒大小的小块，20克马铃薯加水100毫升，煮沸20—30分钟，捣碎过滤，补足蒸发掉的水分，每100毫升马铃薯汁加碳酸钙0.5克，琼脂2克，再加热至琼脂溶化，趁热分装试管（勿使培养基沾在管口壁上），装量约为试管容积的1/5，塞上棉塞灭菌，1.1公斤/厘米²，30分钟，灭菌后冷却至60℃左右摆成斜面。斜面凝成后，取2—3支，置35℃下培养24—72小时，无异状者证明灭菌彻底，可以使用。

如果没有琼脂也可用马铃薯或胡萝卜、山药条（粗约1—1.5厘米，长约6—8厘米）切成斜面状装入试管、试管底部放入一个吸饱水分的棉球，以防斜面干瘪，塞上棉塞灭菌（1.1公斤/厘米²，20分钟），确定灭菌彻底后备用。

（2）接种与培养：

接种要在事前经过灭菌的接种箱或接种室内，以无菌操作进行，必须严格遵守操作手续，不能麻痹大意，每支菌种可移植70—90支斜面菌种，移植后在35℃下培养24—36小时，即可使用。

制成的斜面菌种在冰箱里4℃的条件下可保存2—3个月,吊在井筒里的水面上也可以保存1—2个月,在室内低温干燥处也可保存半月到一个月,只要未污染未干瘪就可使用。若需要保存更长的时间,则需要采取液体石蜡低温保存法,培养基改用磷细菌合成培养基(见附录),隔绝空气,使其代谢降至极低程度,处于休眠状态。

(二) 扩大培养

扩大培养的工艺流程要根据条件和产量要求自行规定,例如采用液体培养还是固体培养,或者是两者结合;又如分为三级扩大培养或是二级扩大培养等等。

1. 液体扩大培养

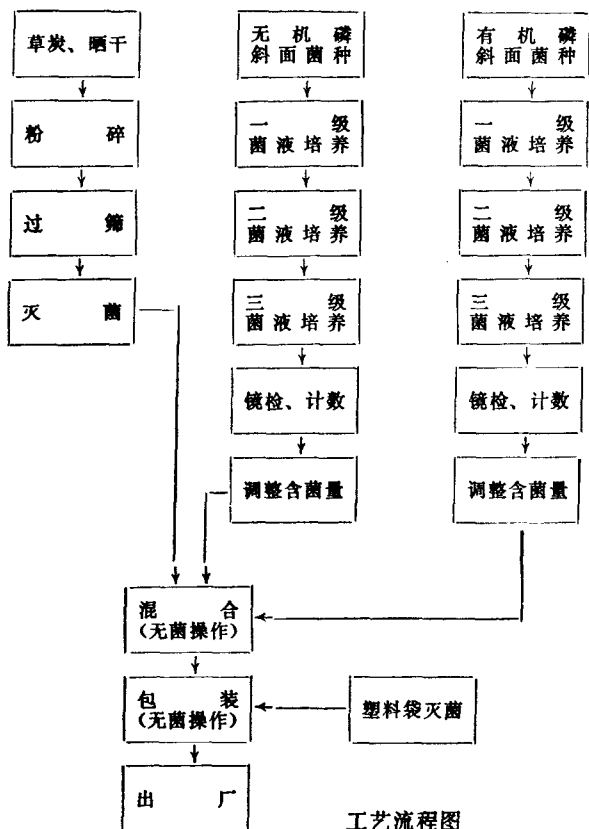
(1) 工艺流程图见下页。

(2) 培养液的制备:

无机磷细菌和有机磷细菌扩大培养用各级培养液均相同,即10%的麸皮水和0.5%的碳酸钙两种原料。取麸皮100克加水1,000毫升,煮沸30分钟过滤,补足煮沸时蒸发掉的水分。由于碳酸钙容易沉淀,可直接按0.5%用量分装瓶内。麸皮来源不方便的地方,也可用其他原料代替,如马铃薯、豆饼、胡萝卜、甘薯、小米面等,用量或配合比率则需要在实践中自行规定。

一级培养用250毫升三角瓶装10%的麸皮水100毫升及0.5克的碳酸钙;

二级培养用1,000毫升三角瓶装10%的麸皮水400毫升及2.0克的碳酸钙;



塞上棉塞，用纸包住棉塞和瓶颈，1.1 公斤/厘米²灭菌30 分钟。

三级培养用 2 万毫升细口瓶，装10%的麸皮水8,000毫升及40克碳酸钙，塞上通气用棉塞(图三)，用纸包住棉塞和瓶口，1.5公斤/厘米²灭菌 1 小时，无细口瓶，可用盐酸坛(氨水坛)代替，若无通气培养条件，则毋需装通气装置，采取摇荡培养。

(3) 培养:

① 一级扩大培养:

取前述培养好的菌种一支,按无菌操作倒入约 4 毫升无菌水,刮下菌苔制成悬液,然后倒入一级扩大培养三角瓶中,在室温 30—37°C 下振荡培养 24 小时,如没有摇床可于保温 6 小时后开始,每隔 1 小时摇瓶一次,每次连续摇 100 下,摇瓶时切勿沾湿棉塞,以免污染。

培养好的菌液,无机磷细菌“83—2”色呈微黄褐,略粘,无臭味。

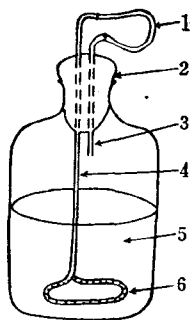
② 二级扩大培养:

一级菌液一瓶接二级培养液一瓶,培养的条件和要求同上。

③ 三级扩大培养:

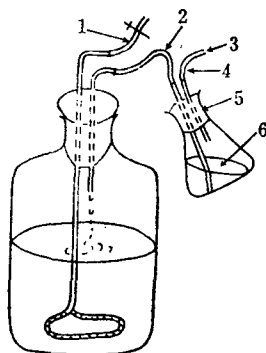
二级菌液一瓶接三级培养液一瓶,接种方法是以无菌操作,用气压接种(图四),若无通气条件,可直接倒入,但需严格注意无菌操作。

接种所用器具,都需灭菌后使用。在接种前,二级菌液瓶,以



图三 三级通气培养瓶装置

1. 回流管(橡皮管) 2. 棉塞
3. 排气管 4. 进气管
5. 培养液 6. 有出气小孔的橡皮管



图四 气压法接种装置

1. 进气管(接种时不进气)
2. 回流管 3. 进气 4. 进气管
5. 接种用橡皮塞(插玻璃管长短各一) 6. 二级菌液