



# 微生物制品 技术及应用

徐凤花 孙冬梅 宋金柱 主编

**WEISHENGWU  
ZHIPIN**

**JISHU JI YINGYONG**



化学工业出版社



# 微生物制品 技术及应用

徐凤花 孙冬梅 宋金柱 主编

*WEISHENGWU  
ZHIPIN*

*JISHU JI YINGYONG*



化学工业出版社

· 北 京 ·

## 图书在版编目 (CIP) 数据

微生物制品技术及应用/徐凤花, 孙冬梅, 宋金柱主编. —北京: 化学工业出版社, 2007. 7  
ISBN 978-7-122-00357-7

I. 微… II. ①徐… ②孙… ③宋… III. 微生物-生物制品-生产工艺 IV. TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 060004 号

---

责任编辑: 刘兴春  
责任校对: 宋玮

文字编辑: 胥景岩  
装帧设计: 张 辉

---

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装: 化学工业出版社印刷厂

787mm×1092mm 1/16 印张 16½ 字数 410 千字 2007 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

---

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

---

定 价: 38.00 元

版权所有 违者必究

# 前 言

21 世纪, 人类面临着能源、食品安全、环境污染三大危机, 微生物制品以其独特的生物功能和环保效应, 越来越受到农业、养殖业、环境保护等行业的青睐, 因此大力开发农业微生物制品, 符合生态农业和绿色食品的发展趋势, 具有极其重要的战略意义。

食品质量安全问题是由于传统农业长期大量连续使用化肥与农药导致土壤有机质减少, 保肥、保水能力下降, 加剧了农田土壤环境污染、水土流失和旱涝灾害, 土壤微生物群落变化, 对生态环境造成巨大危害, 严重影响农产品品质和产量的提高。控制食物链污染的有效措施是减少化肥、农药使用量, 微生物肥料与微生物农药无毒、无害、无污染, 是绿色农业生产的重要生产资料。

随着人类进步和社会的发展, 环境污染严重威胁着人类健康。环境微生物制品具有针对性强、产品多样化、用途广泛、使用安全、操作简单方便、可以随时地处理污染等优点, 成为环境污染处理与净化的主要手段。

我国人口众多, 可耕地面积越来越少, 粮食数量及安全受到人们关注, 人畜争粮问题将会愈加突出, 因此开发新的饲料资源是一个十分重要的战略性问题。微生物饲料以其绿色、环保、安全、高效及适口性佳、抗病等诸多优点, 受到养殖业的青睐。其作用广泛, 饲养效果显著, 因此大力开发微生物饲料具有重要意义。

本书在编写内容上力求与教学、科研及生产应用相结合, 反映我国及世界微生物肥料、生物农药、微生物环境处理和微生物饲料研究的最新成果、生产与应用的新技术及发展趋势, 重点阐述农业微生物制品的研究方法、菌种筛选技术、制品作用机理、生产技术、工艺流程及其使用方法与效果等内容。本书在编写过程中参考了大量国内外最新资料, 因此具有科学性、先进性, 可供农林、生物工程、食品、环境工程等领域的工程技术人员、科研人员及管理人员参考, 也可供高等院校相关专业师生参阅。

全书共分四章, 其中第一章第五至十一节由东北农业大学徐凤花编写, 第二章第一、三、四节由黑龙江八一农垦大学孙冬梅编写, 第一章第一至四节和第三章第六、八、九节由哈尔滨工业大学宋金柱编写, 第三章第一至五节和第七节由东北农业大学潘俊波编写, 第四章第一至三节和第七至九节由东北农业大学徐诚蛟编写, 第二章第二、五、六节和第四章第四至六节由河南大学张海燕编写。全书由徐凤花、徐诚蛟统稿。

本书编写过程中得到了李金、国红艳、万书明、孙兵等同志的帮助, 在此表示诚挚的感谢。

限于水平及时间, 疏漏和不妥之处在所难免, 敬请广大读者批评指正。

编 者  
2007 年 2 月

# 目 录

## 第一章 微生物肥料

|                      |    |
|----------------------|----|
| 第一节 概论               | 1  |
| 一、微生物肥料的基本知识         | 1  |
| 二、微生物肥料的开发应用现状及发展趋势  | 6  |
| 三、微生物肥料的研究方向         | 8  |
| 第二节 微生物肥料菌种的分离与纯化    | 8  |
| 一、土壤样本的采集与菌株的分离      | 8  |
| 二、菌株培养与纯化            | 9  |
| 第三节 豆科根瘤菌剂的生产及应用     | 9  |
| 一、豆科根瘤菌剂概论           | 9  |
| 二、大豆根瘤菌的筛选与鉴定        | 13 |
| 三、根瘤菌剂的生产            | 15 |
| 四、根瘤菌肥料行业标准要点        | 19 |
| 五、大豆根瘤菌剂的使用          | 21 |
| 第四节 固氮菌肥料            | 22 |
| 一、自生固氮菌及其应用          | 22 |
| 二、联合固氮菌及其应用          | 24 |
| 三、固氮菌肥料行业标准要点        | 25 |
| 第五节 硅酸盐细菌(钾细菌)肥料     | 27 |
| 一、钾细菌概述              | 27 |
| 二、钾细菌溶解含钾矿物机理        | 28 |
| 三、钾细菌肥料的生产           | 30 |
| 四、钾细菌肥料的使用方法与增产机理    | 31 |
| 五、钾细菌肥料的应用效果         | 31 |
| 六、钾细菌菌种的分离纯化和保藏      | 32 |
| 七、硅酸盐细菌肥料行业标准要点      | 33 |
| 第六节 磷细菌肥料的生产与应用      | 33 |
| 一、土壤磷细菌概述            | 33 |
| 二、微生物的解磷、溶磷作用及其菌种的筛选 | 35 |
| 三、磷细菌肥料生产            | 36 |
| 四、磷细菌肥料质量标准          | 36 |
| 五、磷细菌肥料的使用方法及效果      | 37 |
| 第七节 抗生素肥的生产与应用       | 38 |
| 一、抗生素的一般特性           | 38 |
| 二、抗生素肥的生产            | 39 |
| 三、抗生素肥的施用方法          | 40 |
| 四、抗生素肥的质量检验          | 40 |
| 第八节 复合微生物肥料          | 41 |

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 一、类型 .....                  | 41 |
| 二、质量标准 .....                | 41 |
| 三、使用效果 .....                | 42 |
| 四、生产应用的注意事项 .....           | 42 |
| 第九节 根际促生细菌 .....            | 42 |
| 一、PGPR 的种类 .....            | 42 |
| 二、PGPR 的作用机理 .....          | 42 |
| 三、PGPR 的发展趋势 .....          | 44 |
| 第十节 光合细菌肥料 .....            | 44 |
| 一、光合细菌肥料的应用基础 .....         | 44 |
| 二、光合细菌肥料的生产 .....           | 45 |
| 三、光合细菌的富集、分离与纯化 .....       | 45 |
| 四、光合细菌的营养与培养条件 .....        | 48 |
| 五、光合细菌与农业 .....             | 49 |
| 六、光合细菌肥料的标准 .....           | 50 |
| 第十一节 有机肥料 .....             | 51 |
| 一、堆肥的概念与原理 .....            | 51 |
| 二、堆肥工艺 .....                | 54 |
| 三、堆肥发酵的影响因素 .....           | 63 |
| 四、生物有机肥 .....               | 65 |
| 五、畜禽粪便生产生物有机肥发酵的设备和技术 ..... | 66 |
| 六、有机肥料生产的主要设备 .....         | 70 |
| 七、生物有机肥的行业标准 .....          | 72 |
| 八、生物有机肥的作用机理与应用效果 .....     | 73 |
| 参考文献 .....                  | 74 |

## 第二章 生物农药 .....

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 第一节 生物农药概述 .....         | 76  |
| 一、概念与特点 .....            | 76  |
| 二、起源与发展 .....            | 77  |
| 三、应用与前景 .....            | 77  |
| 第二节 生物农药的特性与分类 .....     | 80  |
| 一、微生物源生物农药 .....         | 80  |
| 二、动物源生物农药 .....          | 83  |
| 三、转基因生物农药 .....          | 84  |
| 第三节 微生物源杀菌剂及其生产与应用 ..... | 84  |
| 一、主要抑菌防病微生物及其作用机理 .....  | 84  |
| 二、抑菌防病微生物在植物防病中的作用 ..... | 89  |
| 三、放线菌类抗生素的生产与应用 .....    | 92  |
| 四、细菌类杀菌剂的生产与应用 .....     | 103 |
| 五、真菌类杀菌剂的生产与应用 .....     | 103 |
| 第四节 微生物杀虫剂 .....         | 104 |
| 一、细菌杀虫剂 .....            | 106 |

|                       |     |
|-----------------------|-----|
| 二、真菌杀虫剂 .....         | 120 |
| 三、昆虫病毒杀虫剂 .....       | 127 |
| 第五节 其他生物源杀虫剂的应用 ..... | 131 |
| 一、昆虫病原线虫 .....        | 131 |
| 二、昆虫信息素 .....         | 132 |
| 第六节 生物除草剂 .....       | 136 |
| 一、生物除草剂的分类与应用 .....   | 136 |
| 二、微生物源除草剂 .....       | 137 |
| 参考文献 .....            | 139 |

### 第三章 环境微生物制剂及应用

|                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| 第一节 环境污染及其微生物治理 .....           | 140 |
| 一、环境污染 .....                    | 140 |
| 二、微生物对环境污染物降解与转化的巨大潜力 .....     | 141 |
| 三、环境微生物制剂在废弃物资源化处理和利用中的应用 ..... | 142 |
| 四、环境微生物制剂的应用与清洁生产 .....         | 143 |
| 五、环境微生物制剂的研究应用现状及其发展趋势 .....    | 144 |
| 第二节 畜禽粪便微生物处理剂 .....            | 145 |
| 一、粪便无害化处理原理 .....               | 145 |
| 二、畜禽粪便无害化生物处理剂 .....            | 145 |
| 三、畜禽粪便生物处理与资源化利用前景 .....        | 147 |
| 第三节 秸秆微生物处理剂 .....              | 148 |
| 一、秸秆生物处理的意義及原理 .....            | 148 |
| 二、秸秆发酵微生物类群及其菌群的有效组合 .....      | 149 |
| 三、秸秆微生物处理剂的生产工艺 .....           | 150 |
| 四、秸秆微生物处理剂的应用技术 .....           | 150 |
| 第四节 废水微生物处理剂 .....              | 151 |
| 一、有机污水的生物处理基本原理 .....           | 151 |
| 二、活性污泥生物相 .....                 | 154 |
| 三、活性污泥的培育、驯化 .....              | 156 |
| 四、活性污泥中高效降解菌种的生产 .....          | 158 |
| 五、处理含酚污水的微生物制剂 .....            | 160 |
| 六、微生物细胞的固定化及其在废水生物处理中的应用 .....  | 161 |
| 第五节 微生物絮凝剂 .....                | 163 |
| 一、微生物絮凝剂的合成 .....               | 163 |
| 二、微生物絮凝剂的应用 .....               | 167 |
| 三、复合型生物絮凝剂的开发 .....             | 168 |
| 第六节 微生物吸附剂的生产和使用 .....          | 169 |
| 一、微生物吸附剂的吸附机理 .....             | 170 |
| 二、微生物吸附剂的制备和应用 .....            | 173 |
| 第七节 污染环境微生物修复剂 .....            | 175 |
| 一、污染环境生物修复的原理 .....             | 175 |
| 二、污染环境生物修复的意义 .....             | 176 |

|                            |     |
|----------------------------|-----|
| 三、污染环境微生物修复剂的研究方法 .....    | 177 |
| 四、污染环境微生物修复剂的应用 .....      | 180 |
| 第八节 微生物除臭剂 .....           | 185 |
| 一、恶臭污染的来源及危害 .....         | 185 |
| 二、生物脱臭技术概况 .....           | 186 |
| 三、微生物除臭剂的生产 .....          | 190 |
| 四、提高生物除臭效率的措施 .....        | 191 |
| 第九节 生物表面活性剂 .....          | 192 |
| 一、生物表面活性剂概述 .....          | 193 |
| 二、生物表面活性剂的应用及研究现状 .....    | 195 |
| 三、生物表面活性剂的生产 .....         | 195 |
| 四、堆肥过程中产生表面活性剂的细菌的筛选 ..... | 199 |
| 参考文献 .....                 | 201 |

## 第四章 微生物发酵饲料

|                              |     |
|------------------------------|-----|
| 第一节 微生物发酵饲料概述 .....          | 203 |
| 一、种类 .....                   | 203 |
| 二、作用机理 .....                 | 204 |
| 三、主要技术优势 .....               | 205 |
| 四、发展现状及前景 .....              | 206 |
| 第二节 微生物发酵秸秆饲料 .....          | 206 |
| 一、秸秆饲料的资源状况 .....            | 206 |
| 二、秸秆饲料的限制性因素 .....           | 207 |
| 三、秸秆饲料生物法的开发利用 .....         | 207 |
| 四、注意事项 .....                 | 212 |
| 五、生物秸秆饲料的前景 .....            | 212 |
| 第三节 青贮饲料 .....               | 213 |
| 一、青贮的优点 .....                | 213 |
| 二、青贮原理 .....                 | 214 |
| 三、青贮作物的种类与资源 .....           | 218 |
| 四、青贮饲料的制作方法 .....            | 219 |
| 五、发酵促进剂 .....                | 220 |
| 六、青贮饲料发酵过程中的几点关键技术 .....     | 221 |
| 七、样品的采集 .....                | 221 |
| 八、青贮饲料品质的测定 .....            | 222 |
| 九、青贮饲料的饲用技术 .....            | 222 |
| 第四节 单细胞蛋白和菌体蛋白饲料 .....       | 223 |
| 一、单细胞蛋白的开发利用原理及特点 .....      | 223 |
| 二、生产单细胞蛋白饲料的原料及其资源利用特点 ..... | 224 |
| 三、生产单细胞蛋白饲料的微生物 .....        | 226 |
| 四、单细胞蛋白饲料的生产工艺 .....         | 226 |
| 五、单细胞蛋白的安全性问题 .....          | 230 |
| 六、以白地霉饲料为例介绍 SCP 生产工艺 .....  | 230 |

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 第五节 饲用微生态制剂 .....        | 231 |
| 一、动物微生态制剂的发展及其研究现状 ..... | 231 |
| 二、微生态制剂的种类 .....         | 232 |
| 三、饲用微生态制剂的应用原理 .....     | 233 |
| 四、微生物活菌添加剂的应用概况 .....    | 233 |
| 五、动物益生菌的菌种选育标准 .....     | 235 |
| 六、饲用微生态制剂发酵生产工艺 .....    | 235 |
| 七、使用活菌制剂应注意的问题 .....     | 236 |
| 第六节 饲用微生物酶制剂 .....       | 237 |
| 一、饲用微生物酶制剂应用的意义 .....    | 237 |
| 二、饲用酶制剂的主要特点 .....       | 238 |
| 三、饲用酶制剂的主要功能 .....       | 238 |
| 四、饲用酶制剂的主要分类 .....       | 238 |
| 五、饲用酶制剂的发酵生产 .....       | 240 |
| 六、酶的分离纯化与干燥 .....        | 241 |
| 七、优化酶制剂的稳定性 .....        | 242 |
| 八、恰当选择和合理使用饲用酶制剂 .....   | 243 |
| 第七节 畜禽粪便发酵饲料 .....       | 243 |
| 一、概述 .....               | 243 |
| 二、动物粪便的营养价值 .....        | 244 |
| 三、畜禽粪便饲料的发酵方法 .....      | 245 |
| 四、畜禽粪便发酵饲料使用注意事项 .....   | 247 |
| 第八节 菌糠及担子菌发酵饲料 .....     | 248 |
| 一、担子菌及其在饲料生产中的应用 .....   | 248 |
| 二、担子菌对木质素、纤维素的分解 .....   | 248 |
| 三、担子菌发酵饲料 .....          | 249 |
| 四、菌糠饲料的生产 .....          | 251 |
| 第九节 微型藻与光合细菌饲料 .....     | 252 |
| 一、螺旋藻的营养特性 .....         | 252 |
| 二、螺旋藻等藻类的培养技术 .....      | 253 |
| 三、螺旋藻生产应注意的问题 .....      | 254 |
| 四、光合细菌饲料的生产与应用 .....     | 254 |
| 参考文献 .....               | 255 |



# 第一章 微生物肥料

## 第一节 概 论

### 一、微生物肥料的基本知识

#### (一) 概念

微生物肥料又称为细菌肥料、生物肥料，有些国家将其称为接种剂、拌种剂，我国关于微生物肥料的定义有多种。有些人将特殊效能的微生物（如根瘤菌、钾细菌、解磷菌等）经过扩大培养与草炭（或蛭石）等载体混合，且使用量很少的称为接种剂、拌种剂；而将微生物和有机物（畜禽粪便、草炭、褐煤等）或微生物与无机物（化肥、微量元素）混合，经过加工制成，用于底肥、追肥，使用量较大的称为微生物肥料。我国土壤微生物学的奠基人、华中农业大学陈华癸教授认为“微生物肥料是指一类含有活微生物的特定制品，应用于农业生产中，能够获得特定的肥料效应，在这种效应的产生中，制品中的微生物起关键作用，符合上述定义的制品均应归入微生物肥料”。

根据上述定义，微生物肥料应具备两个基本特征：制品中含有的活微生物起关键作用；通过微生物生命活动增加植物营养元素的供应量，使植物营养状况得到改善，进而增加产量。

#### (二) 种类

微生物肥料的种类很多，按照制品中特定的微生物种类分为细菌肥料（如根瘤菌肥、固氮菌肥）、放线菌肥料（如抗生素肥料）和真菌类肥料（如菌根真菌）；按其作用机理分为根瘤菌肥料、固氮菌肥料（自生或联合共生类）、解磷菌类肥料和硅酸盐菌类肥料等；按其制品中组分不同分为单一微生物肥料和复合（或复混）微生物肥料。复合（或复混）微生物肥料有菌与菌复合，也有菌与各种添加剂复合。目前我国市场上出现的微生物肥料主要有以下几种类型。

##### 1. 固氮菌类肥料

固氮菌类肥料是以能在土壤、作物根内或作物根际生活，并能固定空气中氮的微生物为菌种制成的活体制品。固氮菌可分为共生固氮菌、自生固氮菌和联合固氮菌。共生固氮菌如根瘤菌与豆科植物共生结瘤，根瘤菌在根瘤内部生长固定空气中氮供给作物吸收利用；自生固氮菌和联合固氮菌生活在植物根系附近的土壤中或与植物根部形成松散联合共生体，利用土壤中的有机质或根分泌物为碳源，固定空气中的氮，从而改善植物的氮营养，固氮菌本身也能产生生长素刺激植物生长发育。自生固氮和联合固氮微生物较共生固氮的根瘤菌固氮量少，而且施用易受环境中氮含量的影响。

##### 2. 磷细菌肥料

目前认为，解磷、溶磷微生物肥料是指含有能促使土壤中无效磷转化为有效磷的生物制

品。磷细菌具有较强转化磷的能力，按其对于磷的转化作用分为两大类：一类通过微生物生命活动产生的酸类物质，使不溶性磷酸盐类转化为可溶性的磷酸盐，增加土壤中的有效磷含量，这类细菌叫无机磷细菌；另一类是对有机磷的分解作用，使其以无机磷酸盐的形态释放出来，叫有机磷细菌。一些研究单位将分解卵磷脂类的细菌称为有机磷细菌，将转化难溶性磷酸盐的细菌称为无机磷细菌。

### 3. 硅酸盐细菌肥料

硅酸盐细菌肥料是指含有硅酸盐细菌的制品，通常称作生物钾肥、钾细菌肥料、硅酸盐菌剂。硅酸盐细菌也叫钾细菌，能分解土壤中的云母、长石等矿物，释放出钾和其他矿质营养元素；分解磷灰石，释放可溶性磷；还有微弱的固氮作用，可以改善植物的氮营养。菌体在根际形成优势种群，抑制其他病原菌的生长，发酵液属激素类物质，刺激作物生长。

### 4. 光合细菌肥料

光合细菌是一类能将光能转化成生物代谢能量的原核微生物，是地球上最早的光合生物，广泛分布在海洋、江河、湖泊、沼泽、池塘、活性污泥及水稻、水葫芦、小麦等根际土壤中。光合细菌的种类较多，包括蓝细菌、紫细菌、绿细菌和盐细菌等。与生产应用关系密切的主要是红螺菌科中的一些属、种。

### 5. 芽孢杆菌制剂

我国微生物肥料近几年出现了一些芽孢杆菌类产品，其作用机理有的认为是固定氮和解磷，有的则将其归为激素产生菌，还有的认为与植物病害防治有关。

### 6. 抗菌菌肥料

抗菌菌肥料是指利用能分泌抗菌物质和刺激素的微生物制成的肥料产品，含有抗菌菌的制品即为抗菌菌肥料。抗菌菌肥料可提高土壤肥力，提高作物抗病、抗虫能力，刺激作物生长和增加作物抗旱、抗寒能力。使用的菌种通常是放线菌，如细黄链霉菌，我国应用 7. VA 菌根肥料。

菌根是土壤中某些真菌侵染植物根部，与其形成的菌-根共生体，与农业关系密切的是 VA 菌根真菌。VA 菌根不但侵染的植物种类多，范围广，而且其菌丝具有协助植物吸收磷营养的功能，另外对硫、钙、锌等元素及水分的吸收能力也为实验所证实。目前，国内外的研究者用各种方法人工培养大量接种 VA 菌根的植物根，然后用侵染了 VA 菌根的植物根段和有大量活孢子的根际土壤接种作物，获得了较好的增产效果。VA 菌根接种剂主要接种于名贵花卉、苗木、药材和经济作物。

### 7. 根际促生细菌 (PGPR) 肥料

近 20 年，许多研究者发现，在植物根圈中存在多种对植物有益的细菌，在生长代谢过程中产生促进生长物质，将这类有促生作用的细菌通称为根圈细菌。这类细菌日益引起微生物学家和植物保护学家的关注。Sakthivel 等 (1986) 从不同作物根际分离出荧光假单胞菌株用广谱抗真菌抗生素和细菌病原筛选菌株，用 PGPR 处理水稻种子，较对照产量提高 12%~24%。

### 8. 复合微生物肥料

复合 (复混) 微生物肥料是指含一种以上有益微生物及其他营养物质的混合制剂。复合微生物肥料中有益菌种多，选择配制复合 (复混) 微生物肥料的主要原则是其中的各种微生物必须彼此无抑制作用，并且在同一载体中不会互相争夺营养；微生物与营养物质复配时加入的营养物质数量及其对微生物的存活没有影响。目前主要有以下几种。

(1) 微生物-微量元素复合肥料 微量元素是植物体内酶或辅酶的组成成分,对高等植物叶绿素与蛋白质的合成、光合作用以及养分的吸收利用等具有促进和调节作用。将微生物与微量元素混合制成肥料,不但为作物提供了必需的营养元素,其中的微生物还可以促进营养元素的吸收和转化。

(2) 联合固氮菌复合生物肥料 由于植物的分泌物和根的脱落物可以作为能源物质,固氮微生物利用这些能源生活和固氮,因此称为联合固氮体系。我国科研人员将从水稻、玉米、小麦等禾本科植物根系中分离出的联合固氮细菌制成微生物肥料,该肥料中的微生物具有固氮、解磷、激活土壤微生物和分泌植物激素等功能,促进作物生长发育,提高单位面积产量。

(3) 两种或两种以上微生物复合肥料 这种生物肥料可以供给作物一定量的氮、磷和钾营养元素,将不同的菌种分别发酵,然后按比例复合制成菌剂,其应用效果优于单一菌肥。

(4) 微生物与有机肥料复合 在长期应用微生物肥料的实践中,人们认识到,单独施用微生物肥料满足不了作物对营养元素的需要,生物肥料的增产效果是有限的;而长期大量使用化肥,会导致土壤板结,农产品品质下降。因此,微生物和有机肥复合能够强化其功效,成为人们关注的一种新型肥料。

(5) 多菌株多营养复合肥料 这种生物肥料是利用微生物的各种协同关系,以廉价的农副产品或发酵工业的下脚料为原料,通过多种有益微生物混合发酵制成的微生物肥料。由于微生物的种类多,可以产生多种酶、维生素及其他生理活性物质,直接或间接地促进作物的生长。

### (三) 主要功效及作用机理

微生物肥料功能及其作用机理的研究近年已有很多文献报道,微生物肥料中起关键作用的是活的有效微生物。利用微生物生命活动及其代谢产物的作用,改善作物养分供应,向农作物提供营养元素和生长物质,调控作物生长,达到提高产量和改善品质,增强土壤肥力,减少或降低病虫害发生,改善环境质量的目。微生物肥料的主要功效和作用机理包括以下几方面。

#### 1. 直接为作物提供营养元素

根瘤菌类、自生和联合固氮菌类微生物肥料可以固定大气中的氮,增加植物的氮营养。目前,对根瘤菌侵染及结瘤过程的生物化学基础研究得比较清楚,对其结瘤过程的分子机制研究也取得了较大进展。自生固氮类肥料,由于其固氮量少,且难以定量,故对其固氮机制的研究进展缓慢。联合共生固氮细菌与根瘤菌不同,其大多聚集在根皮表面,未能形成类似根瘤的稳定共生结构,因而受根际环境因素影响较大。

#### 2. 活化土壤养分,增加土壤肥力,促进作物对营养元素的吸收

增加土壤肥力是微生物肥料的主要功效之一。各种自生、联合、共生的固氮微生物肥料,增加土壤中的氮来源,解磷、解钾微生物的应用,将土壤中难溶的磷、钾转化出来,被作物吸收和利用。

多数学者认为磷细菌肥料的解磷机理主要是一些种类微生物在生长繁殖和代谢过程中产生有机酸,如乳酸、柠檬酸、草酸、乙酸和无机的碳酸、硝酸或硫酸等两类物质,降低土壤环境中 pH 值,使固定在土壤中的难溶性磷酸盐转化为可溶性磷酸盐;或有机酸通过螯合闭蓄态 Fe-P、Al-P、Ca-P,使之释放有效磷,提高土壤可溶性磷酸盐的含量,以供作物吸收利用。通过微生物呼吸作用释放 CO<sub>2</sub>,降低土壤环境 pH 值,使难溶性磷酸盐转化为可溶性

磷酸盐；有些细菌释放的  $H_2S$  与磷酸铁作用，释放可溶性磷酸盐。

通过微生物产生磷酸酶，土壤和植物根际有很多微生物产生磷酸酯酶，将有机磷化物中的磷酸酯键打开，释放磷酸，提供植物所需的磷营养。

近几年的研究表明，微生物肥料可以溶解土壤中难溶性磷酸盐，提高磷的有效性。VA 菌根真菌肥料的重要机理之一就是与土壤的磷营养供应密切相关。一方面，VA 菌根通过根外菌丝延伸以扩大磷的吸收范围；另一方面，VA 菌根提高磷酸酶活性，同时产生草酸或柠檬酸等物质，结合 Fe、Al，使固定态磷酸盐转化成有效磷。硅酸盐细菌类肥料对土壤中云母、长石和磷灰石等含钾、磷的矿物进行溶解，使难溶性钾转化为有效钾，正是由于这种“溶钾”作用，这类细菌也俗称“钾细菌”。据报道，施用这类细菌肥料对各种喜钾作物如甘薯、烟草、水稻、棉花、小麦等均有明显的增产效果。

硅酸盐细菌类肥料能对土壤中云母、长石、磷灰石等含钾、磷的矿物进行分解，增加土壤中有效钾水平。

目前，关于微生物对微量元素活化作用的研究多集中在微生物对铁营养的影响方面，认为植物铁营养的吸收转运得益于细菌胞膜上的各种铁载体蛋白。如荧光菌素 (*Pseudobactin* 358) 促进大麦对铁的吸收，并促进叶绿素的合成。铁载体对植物铁营养的影响很复杂，至少与生产菌株、铁载体类型、植物种类和土壤条件有很大关系。另外，许多研究报道证实，VA 菌根真菌肥料能增加宿主对 Zn、Cu、Ca、Mg、Mn 和 Fe 的吸收。

### 3. 分泌多种生理活性物质刺激和调节植物生长

关于微生物肥料促进植物生长的机理，大量研究表明，微生物活动产生的植物生长调节物质以及维生素都不同程度地刺激和调节植物的生长。

(1) 细胞分裂素 细胞分裂素促进细胞分裂和细胞体积增大，并抑制衰老。有研究者筛选了假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和沙雷菌属 (*Serratia*) 根际促生微生物，观察其产生的细胞分裂素与诱导根伸长的关系，发现植物细胞分裂、叶绿素 (chlorophyll) 的积累、叶面扩展以及叶片脱落等都与微生物产生外源细胞分裂素有很好的相关性。有人报道植物根际促生细菌 (PGPR) 分泌到培养基中的 CTK 可促进细胞分裂和细胞体积增大，并抑制衰老。

(2) 植物激素 很多研究表明，共生微生物产生的植物激素在植物生长发育过程中起到一定作用。植物激素类物质主要有生长素 (主要是 IAA)、赤霉素 (主要是  $GA_3$ 、 $GA_1$ )、细胞分裂素 (CTK)、脱落酸 (ABA)、乙烯和酚类化合物及其衍生物等。它们的作用不是孤立的，而是相互协调、相互制约的。其中，ABA 和酚类化合物相当于抑制剂，是植物调节内生长素的手段之一。目前，对根际促生细菌产生 IAA 的作用及机制的研究较为深入，而对 GA、CTK、ABA 和乙烯的研究有待进一步深入。

(3) 酸类物质 各种微生物肥料通过自身三羧酸循环 (TCA) 产生的许多有机酸，除了有螯合作用和酸溶作用外，其本身就是一种生理活性物质，促进作物生长。

有研究表明，1:1 的琥珀酸与乳酸混合，在稀释至  $10 \times 10^{-5}$  时，使植物根生长量增加 40%。水杨酸 (SA) 是一种铁载体，使植物产生系统获得性抗性；同时，SA 又是一种激素，能够诱导植物开花和产热，抑制乙烯的生物合成，并能促进种子萌发，抑制伤信号转导。

(4) 产生抗病和抗逆作用，间接促进植物生长 微生物肥料产生铁载体、抗生素、系统防卫酶和氰化物等多种物质抑制细菌或真菌性病害；在作物根部接种微生物后，有益微生物大量生长繁殖，成为作物根际的优势菌，限制了其他病原微生物的繁殖；其中有些微生物对

植物病原菌还具拮抗作用,诱导系统抗性以减轻作物病害。有些微生物肥料的特殊微生物可提高宿主的抗旱性、抗盐碱性、抗极端温度、湿度、pH 值和抗重金属毒害等能力,提高宿主植物的逆境生存能力。如 VA 菌根真菌肥料有一定抗旱能力,不同菌株之间的抗旱能力差异明显。筛选出抗旱菌株利用 VA 菌根真菌接种白花三叶草的研究结果表明,在田间持水量 20% 的土壤水分条件下,三叶草总生长量下降,但经过接种处理的植物其地上部分干重仍然高于对照,增幅达 25%~33%,间接地促进植物生长。

(5) 节约能源,保护环境 微生物肥料无毒无害,不会污染环境,与化学肥料相比肥效作用持久。化学肥料施入土壤后,养分集中释放造成严重的浪费,肥料利用率低,造成严重的环境污染。而微生物肥料是通过其生命活动活化土壤各种养分,过程是温和、持续进行的,不会引起养分的流失和浪费,也不会引起环境污染。另外,以农业废弃物为微生物肥料载体,减少环境污染,实现了废弃物的资源化利用。

#### 4. 减少化肥用量,提高农产品品质

使用微生物肥料可以减少化肥的施用量。国外许多在根瘤菌的应用研究时,田间试验以减少氮量为对照,用以说明使用根瘤菌后,由于固氮作用,减少化肥氮施用量的多少应视不同菌株的固氮效率而定。除了根瘤菌肥以外,其他的微生物肥料在施用后也有减少化肥施用量的效果,在相同产量时减少化肥用量不仅有重要的经济意义,而且更具生态学和环境价值。

许多研究表明,使用微生物肥料提高了农产品的蛋白质、糖分、维生素含量,减少了硝酸盐的积累。

#### 5. 微生物肥料与土壤环境

为提高作物产量,大量施用化肥、农药,加剧了土壤生态系统的破坏,使用微生物肥料是修复土壤生态系统的关键措施。微生物肥料进入土壤生态系统后,在适当的水分、温度、pH 值等条件下,与土壤有益微生物共同形成优势菌群,促进土壤生态系统中碳、氮和氧的循环。

#### 6. 微生物肥料与绿色食品

绿色食品生产以生态学为理论依据,要求生产中充分合理地利用资源,保护生态环境,维护良好的生态平衡。在绿色食品生产中选择的肥料种类包括有机肥料和微生物肥料,使足够数量的有机物质返回土壤,以保持或增加土壤肥力,增强土壤微生物活性,达到减少污染、提高土壤供肥能力的目的,以形成良性生态循环。

#### (四) 研究、生产及其应用中存在的问题

我国微生物肥料的研究、生产及其应用虽然有了很大发展,但由于诸多原因,还存在一些问题,主要包括以下几个方面。

##### 1. 基础研究落后于生产实践

长期以来科研力量与经费不足,很多研究停滞在增产原因分析、菌株分离和大田试验方面,而微生物肥料中菌种的生物学特性、作用机制、最佳生产工艺、微生物肥料在土壤和根际的定植和繁殖动态、菌剂的生态行为、影响肥效的制约因子等机理缺乏深入系统研究,导致微生物肥料的基础研究薄弱,商业价值不大,严重制约着微生物肥料的推广应用。

##### 2. 菌种数量少,混杂、退化现象严重

我国微生物肥料生产的主要问题是优良菌种资源匮乏。绝大部分生产企业使用的菌种没有自己的知识产权,既无系统的大田试验结果,又无菌株的鉴定分析,其生产效果和基因工

程的安全性难以保证。另有部分生产企业引进的菌种环境适应性差,难以在目标作物根际生长形成优势,对作物生长产生促进作用。生产中存在的另一问题是菌株退化,优良菌种是菌肥生产的关键技术之一,目前应用的微生物肥料主要是细菌肥料,而细菌的自发突变使其性能减弱,加之有很多优良基因位于质粒上,易于丢失,导致产品功效降低。

### 3. 生产工艺及设备落后

加工企业是微生物肥料产业化发展的第一关。目前,我国部分微生物肥料加工企业存在设备简陋、工艺不完善和质量意识不强等问题,产品质量问题主要表现为有效活菌数低、肥料颗粒硬度不够以及含水率高等。

目前微生物肥料的造粒工艺有圆盘式、转鼓式、对辊式和挤压式四种方法。其中,圆盘式、转鼓干燥式脱水过程必须采用低温干燥脱水工艺,温度控制界限以菌系不受伤害为宜,投产前必须进行耐温承受强度试验,确认安全无误方可进行投产。对辊式不存在温度问题,但产量过低。挤压式造粒则在挤压过程中有一个瞬时高温,质量难以控制,故不宜采用。

### 4. 存在随意复合现象

个别产品中含有大量化肥,甚至添加植物生长激素,以普通化肥卖微生物肥料的高价。研究表明,不同菌种混合后相互间可能产生共处、促进、拮抗、抑制等不同作用,或施入土壤后某些菌株逐渐被淘汰。因此,应该经过严格的组合筛选试验;根际微生物对生态环境与作物有较强的选择性,各类接种剂均应有系列产品,才能满足不同地区不同作物的需求。

### 5. 缺乏质量检测

我国的微生物肥料质量管理工作起步较晚,目前存在的主要问题是标准少,覆盖面窄,许多微生物肥料产品没有可依据的行业标准。有些企业没有完善的产品标准、产品质量检验人员和必需的检验设备。

## 二、微生物肥料的开发应用现状及发展趋势

### (一) 开发应用现状

施用化肥和农药是保证粮食产量的主要手段。据1999年统计,我国化肥用量为 $1.14 \times 10^8 \text{ t}$ ,居世界首位,每公顷施用量是日本的2倍、美国的2.4倍、加拿大的4.4倍、澳大利亚的8.2倍、俄罗斯的9倍。而化肥利用率只有30%左右。与1974年比较,此后的25年中,我国化肥施用量增加了12.3倍,而粮食单产增加1.4倍,总产仅增加1.3倍。化肥、农药、植物生长调节剂等在大幅度提高农作物产量的同时,也造成土壤有机质减少,保肥、保水能力下降,进一步加剧了环境污染、水土流失和旱涝灾害,对生态环境造成巨大危害。世界上许多国家,特别是欧洲、美国、日本等发达国家和地区纷纷提出并推行有机农业、生态农业、自然农业等生产方式。其共同的特点是强调人与自然的和谐,注意保护农业生态环境,为人类提供充足、洁净、无公害的优质农产品和食品,有机农业的发展带动了生物肥料和生物农药等商品化生产技术的提高和发展。

我国正在积极发展生态农业,生产绿色食品,减少化肥、农药施用量,控制土壤环境污染。而微生物肥料价格低,用量少,无毒无害,不污染环境,可以直接通过微生物的生命活动为作物提供养分或生长刺激、调节物质;也可间接通过微生物代谢产物活化土壤难溶性养分,使之成为可溶性养分,为作物吸收利用,通过产生的代谢产物刺激、调节作物生长发育;扩大根系对养分的吸收能力,改善作物根际的微生态环境,并具有防止和减轻病害发生

的功能,提高肥料利用率和粮食品质,保护环境和人类自己。

国际上微生物肥料的应用已有 100 多年的历史,有 70 多个国家研究应用微生物肥料,并将此作为一项长远计划,一些先进国家生物肥料用量逐年增加,并已取得很好效果。近年国际上微生物接种剂的研究和使用发展迅速,种类繁多。美国 1998 年年产达  $65 \times 10^4 \text{t}$ ;日本有数百种上市,大体分为两类,一是个别有效菌的扩大培养物,二是自然发酵直接作菌剂。

我国 20 世纪 50 年代从前苏联引进固氮菌、磷细菌和硅酸盐细菌,称为细菌肥料;60 年代推广应用抗生素“5406”肥料和固氮蓝绿藻肥;70~80 年代中期开始研究 VA 菌根,以改善植物对磷的利用率;80 年代中期至 90 年代应用联合固氮菌作为拌种剂;近几年大面积应用由固氮菌、磷细菌、钾细菌和有机肥制成的复合生物肥料。90 年代初设立总理基金项目,重点支持废弃物的资源化和生物肥料的研究及在农业生产中的应用技术。随着生态农业和绿色食品生产的兴起和发展,微生物肥料作为农业生产的一类重要环境友好型新肥源以及对作物生长的多种功能和作用特点,再一次引起人们的重视,并得到一定的发展空间,目前全国已有数百家企业生产微生物肥料。微生物肥料的研究与应用处在一个崭新的发展时期,以其独特的生物功能和环保效应显示出极好的发展前景。

在微生物肥料中,根瘤菌接种剂应用最早,其中大豆、花生、紫云英及豆科牧草接种面积较大,增产效果明显。紫云英根瘤菌在未种植过紫云英的地区使用,产草量可成倍增长;大豆接种根瘤菌每公顷增产 225~300kg;花生接种根瘤菌增产 10%~50%。豆科作物从根瘤菌中获得的氮是其一生所需氮的 30%~80%,如果根瘤菌使用面积达到  $666.67 \times 10^4 \text{hm}^2$ ,则可减少化肥  $(12 \sim 50) \times 10^4 \text{t}$ 。

## (二) 发展趋势

纵观微生物肥料发展历程,可以看出我国微生物肥料发展趋势如下。

### 1. 由豆科作物接种剂向非豆科菌肥方向发展

微生物肥料起源于豆科作物专用根瘤菌接种剂。然而,豆科作物种植面积在我国较小,对肥料需求量远不如粮食作物大,始终没有形成产业规模。今后微生物肥料将转向非豆科粮食作物用肥。

### 2. 由单一菌种向复合菌种方向发展

微生物肥料具有非单一功能作用,因而必然发展多种菌的复合。目前,国内微生物肥料趋向将固氮菌和解磷、解钾细菌复合在一起施用,同时供应作物氮、磷和钾等营养元素。

### 3. 由单一功能向多功能方向发展

微生物在生长繁殖的同时,向作物根际分泌的代谢产物具有改善植物营养、刺激生长和抑制病原菌等功效。有些自生固氮菌在固氮的同时还能抑制病原菌,产生刺激物质。因此,微生物肥料将向多功效方向发展。

### 4. 向芽孢菌剂方向发展

目前,我国应用的各种微生物肥料中固氮菌类(包括根瘤菌类)都是无芽孢菌。但是,由于无芽孢菌抗逆性低,不耐高温和干燥,不耐存储,难以进入商品渠道。因此,微生物肥料菌种应选用抗逆性强的芽孢杆菌属,便于生产与应用。

### 5. 建立国家的微生物肥料菌种资源平台

菌种作为生物的一种宝贵资源,国家应加大力度进行收集,研究与挖掘对不同生态区新的菌种资源,建立菌种资源库,有针对性地为微生物肥料生产企业提供优良菌种,以利于生

产不同生态区、不同作物的肥料品种。

### 6. 加强菌种与产品质量管理

菌种是影响微生物肥料质量的关键因素之一，所以微生物肥料的监督应从菌种开始，直至产品的检验、生产过程，都由行业进行监督管理。

## 三、微生物肥料的研究方向

目前微生物肥料发展速度落后于肥料工业的发展要求。我国在长期的农业生产应用中取得了较好的效果，加之近年 DNA 重组技术应用于微生物肥料领域后极大地促进了这一领域的发展，不仅大大加快了筛选优良菌种的进程，而且还可以构建新的优良菌种。随着人们环境保护意识的提高，微生物肥料将有巨大的潜力。

微生物肥料主要存在肥效慢、专一性强、使用面较窄、贮存期短、易死亡等问题，而且菌种分类地位不明确，有些产品使用的菌种缺乏必要的鉴定材料，不利于产品的标准化和商品化。因此，微生物肥料主要在以下几个方面进行深入研究：

- ① 研究非豆科的固氮作用的分子基础，提高微生物的固氮水平；
- ② 通过 DNA 重组技术改造共生固氮细菌，提高其竞争力，促进根瘤的形成；
- ③ 筛选优良的微生物菌株合成铁载体 (siderophores)，拮抗植物病原微生物的生长；
- ④ 筛选产生植物激素的微生物，使之能释放特定水平的某种激素，以促进植物的生长；
- ⑤ 完善微生物肥料的产品标准，加强对微生物肥料的质量监督和管理；
- ⑥ 提高与规范微生物肥料产品的质量检测，合理利用自动稀释仪、红外扫描菌落计数器、荧光抗体技术、免疫酶标技术、单克隆抗体、免疫印记技术、限制性核酸酶切图谱 (RFLP) 及核酸杂交等对微生物肥料的质量提供检测技术；

- ⑦ 提高微生物肥料企业的生产质量水平与加工能力，改造和更新生产设备。

总之，由于微生物肥料具有成本低、效益高、无污染、原料来源广泛等优点，符合现代生态农业和可持续发展的方向。随着社会对环境保护的日益重视，生态农业、绿色农业和有机农业的蓬勃发展，微生物肥料在农业生产中将发挥出其应有的经济效益和生态效益。

## 第二节 微生物肥料菌种的分离与纯化

### 一、土壤样本的采集与菌株的分离

#### (一) 土壤样本的采集

微生物肥料菌种分离是筛选的第一步，目的是获得不同种类的菌株，供进一步筛选用。土壤是微生物生长的大本营，所以，微生物肥料菌种主要从土壤分离得到。由于土壤中有多种微生物，应采用不同选择培养基进行分离。

#### (二) 菌株的分离

##### 1. 稀释法

称取采集的土壤样本 10g，置入装有玻璃珠的 100mL 无菌水三角瓶中，振荡 20min，即制成 10% 的土壤悬浮液，静置 30s，用无菌吸管按每级稀释 10 倍的顺序制备系列的土壤稀释液。分离的稀释度是根据土壤中的目的菌含量而定，稀释度过大，出菌率过低；稀释度过小，会使分离的菌落过密，影响分离和纯化效果，所以应做预备试验，以确定适宜的稀释倍数。