

固氮菌肥料—应用液体通气法制造

常熟細菌肥料厂編

科技卫生出版社

內 容 提 要

本書簡要地介紹了固氮細菌肥料的一種大量製造方法——即液體通氣法的培養基配備、製造技術及施用注意事項。

製造技術方面，自培養瓶的裝置滅菌、菌種擴大、接種移植、菌液檢驗以至拌菌包裝整個程序的設備操作，都附圖分別講述；末后，施用方面附圖尤多。

本書可供各地公社社員、干部、技術員及下放干部製造或施用固氮菌肥料的參考。

固氮菌肥料——应用液体通气法制造

編 者 常熟細菌肥料厂

科技卫生出版社出版

(上海南京西路2004号)

上海市書刊出版業營業許可証出093号

上海新华印刷厂印刷 新华书店上海发行所总經售

开本787×1092 1/32 印張5/8 字數13,000

1958年11月第1版 1959年8月第3次印刷

印數9,001—17,000

統一書号：16119·224

定价：(九) 0.03 元

目 录

一、我們怎样搞起来的.....	1
二、固氮菌及其液体通气培养法的价值.....	5
三、培养基配制.....	6
四、制造技术.....	8
五、固氮菌肥施用法.....	14
六、結語.....	15
附录 I 器材設備.....	16
II 固氮菌肥追肥施用法图解.....	17
III 固氮菌肥蘸秧根施用法图解.....	18

一、我們怎样搞起来的

1. 决定了进军的方向

“三麦赶水稻，水稻翻一番”，这是今年常熟百万人民在党的领导下所提出的战斗口号。肥料是一切农作物的粮食，要农作物丰产，就先要充分增施肥料。县委在领导全民大搞肥料的开始，为了从各个方面开发肥源，及时地决定了必需在最短期内，在常熟办起第一个细菌肥料厂。四月中旬：是全县人民热火朝天，声势浩大，大搞肥料的时候，紧张的筹建细菌肥料厂的战斗也在这个时候开始了。

菌肥筹建小组，是由中学、医院等部门的科技工作者六人所组成的，在一天等于二十年的祖国飞跃前进的形势面前，他们勇敢、坚毅地用四天时间参观访问了常州、无锡、扬州的菌肥厂，农药厂和农学院等六个单位，车上、船上是他们总结学习心得、部署参观和计划的最好时机。深夜一点钟了，他们还是在讨论计划，可是学习中来了一个问题，县委决定投资是5千元办厂的，假使用固体培养法生产菌肥，以日产四吨计算，单是培养瓶，就需投资4千2百元，再加上必要设备，至少要花2万元。后来，解决问题的线索终于摸到了，筹建组在学习文献中，看到了液体深层培养固氮菌的资料，但这是一篇试验室的资料，大量生产还有待进一步发展。筹建组在“只怕想不到，不怕做不到”的跃进口号的启示鼓舞下，勇敢地决定了向液体深层培养进军，在他们回

常的旅途中，就提出了建廠的詳細計劃。

2. 二个鐘点建立了菌肥厂

四月二十五日在充滿活力和跃进气氛的縣長室里，滿坐着醫院院長，中學校長，工業、農業、文教衛生等行政部門的負責人。“今天的會議是要在各個部門的大力協作下，獻技術、獻力量、獻計謀，立即行動，把細菌肥料廠很快地辦起來”，這是康縣長在會議開始時的第一句話，在籌建組彙報了參觀學習的簡況後，到會的代表，熱烈地討論了辦廠計劃；對所需人力物力，不到一小時，各部門都一口氣的分包了下來。為什麼呢？為了加速建設社會主義！“為了農業大豐收，為了地方工業的紅花開遍常熟，細菌肥料廠需要人，就支援人；需要設備，就支援設備；要支援什麼，就支援什麼”。這是第一人民醫院，邊藍田院長的講話，也是到會全體代表的態度。人有了，設備有了，一切都有了。“常熟的第一個細菌肥料廠，可以說是就在今天，就在这不到二个鐘点的時間里，建立起來了！”康德縣長除了讚揚鼓舞大家的共產主義協作精神和辦廠的干劲外，在會議最後就宣布了这个令人激動和自豪的結語。

3. 冲天干劲冲破了困难

具體籌建工作開始了，不到一天，房子找到了；必要的設備也借來了。最感動人的是，第二人民醫院將還來得及開封的恆溫箱，由支援辦廠的護士一起抬到工廠來了。婦幼保健所自己設備也並不是很充足的，而他們一下子，就將最大的高壓消毒器，頂好的顯微鏡，培養需要的用藥，甚至將所里的化驗員，藥物箱和工作檯等一個半天都搬到工廠來了。縣中、省中、防疫站、

农林科、商业局，都是馬上把人和設備，一起搬到了厂。人員中：有高三、初三班的主任、理化生物教師，有化驗師、化驗員、护士，有經驗丰富的培菌老工人。設備中：除上述的消毒器、恆溫箱等外，还有万分之一的分析天秤，有接種罩。筹建組的同志还把家里的剪子、鉗子——都支援借出。全党支持全民支持的这股巨大的力量，压倒了一切困难。不到四天的時間，筹建組打响了第一炮——液体深层培养試制获得成功，这是常熟人民的大喜事，是总路綫照耀的成果。五一节的全县人民庆祝大会上，响起了菌肥試制成功的喜讯，人們沸騰着共产党万岁，毛主席万岁的欢呼声，震遍和透过了整个会场。

車間生产和小量試制，并不是一回事。接着“讓菌肥早日投入生产”，变成了全体筹建人員的战斗口号。沒有风泵，就用水泵代替；沒有保温設備，用三根电热綫架在耐火磚上升温；沒有接气管，用破車胎裝代。星期日照常工作，黑夜当作了白天，吃也拿着飯碗蹲在車間边；在这时候，县委書記下厂指示，科技人員来厂帮助設計，报纸、播音站的同志来厂訪問攝影，以及地委、北京、上海、无錫、常州、苏州等县的領導人来厂参观，更鼓起了我們的干劲，干了半个月，到五月二十日用液体深层培养的第一批固氮菌肥料終於正式出厂了。在这个時間里，是碰到許多問題，也遇上了許多大小困难，但是問題和困难，終於被全厂人員的冲天干劲，所冲破和潰散了。

4. 菌肥产量一翻再翻

五月分計劃生产菌肥 60 吨；六月分計劃 100 吨超額了 25 吨；七月分跳了一倍，八月分又翻了翻。因为細菌肥料还年輕，各地还没有普遍使用，也有人怀疑，肥效究竟怎样？但根据本厂

試驗田里对于作物的对照試驗，活生生的戳破了这个謎。例如：施用菌肥的大豆，莖叶生長粗壯，比沒有施用菌肥的莖秆要高过一尺，叶要多上一倍；茄子早熟四天；玉米收获增長三成；水稻棉

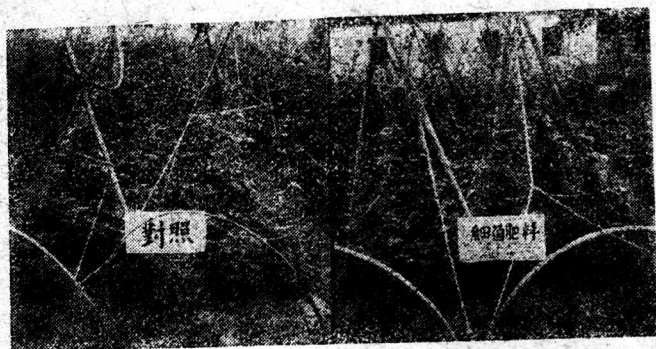


图 1 对四季豆施用菌肥的試驗
(左——不施菌肥， 右——施用菌肥)

花生長的肥效也很明显。省立常熟中学的四季豆，早熟了三天(图1)；支塘乡和无錫安鈕的来信报导，棉花等作物实际試驗，肥效也很显著，这是說明大量生产菌肥是完全必要的。同时相信細菌肥料將在常熟各乡各社，处处开花，在农业生产中將起更大的作用。

为了更多地增积肥料、扩大副业生产，本厂全体职工，找窍门，挖潜力，在七一节試制成功了草菇菌种，試种結果証明生長活力很旺。因为草菇生产，用作培养的稻草(或麦秸)可以加速发酵，提高稻草作肥料的成效，而草菇出菌每堆可达20~40斤，这也是本厂在七一节，对党和人民的一个献礼。在党的重視和支持下，最近本厂接連又試制成功了蘑菇、香菇，木耳菌种以及小麦固氮菌、抗生素等新产品。

二、固氮菌及其液体通气培养法的价值

氮素是植物正常生長和发育所不可缺少的养料，没有氮素，植物便不能合成自身生活細胞的原形質所需要的蛋白質；但是土壤中所貯藏的可供植物利用的氮素，却是非常有限，因此除向土壤中施用氮素肥料以外，利用土壤中某些微生物，来固定土壤大气中无穷尽的气态氮素轉变成氮素化合物，供植物利用，是非常有意义的。自生固氮菌，即是土壤中可利用的微生物之一。

自生固氮菌是荷蘭生物学家 M. W. 別依林克 (Bengernick) 氏在 1901 年首先从土壤中分离出来的。苏联自 1926 年即开始研究，通过試驗，証明自生固氮菌剂对各种植物有增产效果，1936 年就大量地制造和应用。

我国在近二十年中，也有学者进行了一系列的研究。解放以后，由于党的重視，获得了一定的成績。例如：中国科学院、农业部、华北农业研究試驗机关及农学院等，都进行了固氮菌的分离培养和接种試驗工作，証明这种細菌肥料可使作物提早成熟，增加产量，改良土壤理化性質，并且經濟簡便，实为农业技术革新方面一种主要技术措施。我省在最近肥料工作會議上，也指出各地应大量生产固氮菌等細菌肥料，以支援农业生产大跃进。

固氮菌肥的生产，一般有固体培养和液体通气培养两种方法。液体通气培养在技术条件上与設備要求上比較严格，然根据多快好省的精神，液体培养是今后大量生产的主要办法与方向（参考六、結語）。本書仅就我厂进行液体通气培养的一些不成熟的初步体会，作一概略介紹。

三、培养基配制

1. 酵母培养基

蔗糖	15 克
七水硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.2 克
磷酸氢二钾(K_2HPO_4)	0.2 克
氯化钠(NaCl)	0.2 克
氯化钙(CaCl_2)	0.5 克
酵母汁(2%)	100 毫升
微量元素*	2 滴
蒸馏水	900 毫升
pH	7.2

2. 改良 Ashby 氏培养基

蔗糖	20 克
磷酸氢二钾(K_2HPO_4)	0.5 克
硫酸镁(MgSO_4)	0.2 克
氯化钠(NaCl)	0.2 克
碳酸钙(CaCO_3)	5 克
钼酸钠(Na_2MoO_4) 1%	5 毫升
蒸馏水	1000 毫升

3. 改良 BEPK 培养基

磷酸氢二钾(K_2HPO_4)	0.8 克
-----------------------------------	-------

* 微量元素成分:

硼酸(H_3BO_3)
钼酸钠(Na_2MoO_4)
蒸馏水

5 克
5 克
1000 毫升

磷酸二氫鉀(KH_2PO_4)	0.2 克
硫酸鎂(MgSO_4)	0.2 克
氯化鈣(CaCl_2)	0.1 克
硫酸亞鐵(FeSO_4)	0.015 克
硫酸鐵 $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$	0.005 克
鉬酸鈉(Na_2MoO_4)	0.005 克
蔗糖	20 克
檸檬酸鈉	0.5 克 (或用檸檬酸銨 2.9 克)
自來水	1 立升
pH	7.0~7.2

經過多次的試驗,對以上三種培養基的初步體會:

(1) 酵母培養基成分配備上,用酵母粉能促進細菌繁殖生長;但配制麻煩,pH 值變化較大,且培養基外觀呈混濁,不易觀察細菌的生長情況。

(2) 改良 Ashby 培養基外觀清晰,pH 較穩定,配制簡單,但沉淀較多,增菌數不顯著。

(3) 改良 BEPK 培養基,外觀清晰,pH 穩定,增菌數較高。

為了及時滅菌,使培養基在滅菌前不被雜菌污染,可採用下述方法進行:

I. 每一大瓶所需培養基成分,預先稱就,置於磁杯中(如採用改良 BEPK 培養基, NaMoO_4 等微量的成分,可先配成溶液用吸管加入)。

II. 用清水校正至 pH 7.0。

III. 滅菌前將培養基成分,倒置大瓶中,注加 pH 7.0 的清水至需用量,即可進行高壓滅菌。

IV. 如此配備成的培養基,pH 為 7.2~7.4 便適合應用。

四、制造技术

1. 培养瓶的装置及灭菌 将 10,000 毫升培养瓶洗濯清洁，配入 6000~8000 毫升培养基后，即装上预先配有布袋玻璃管的橡皮塞(如图 2)。接着，经过 15 磅 (120.5°C) 30 分钟的蒸汽灭

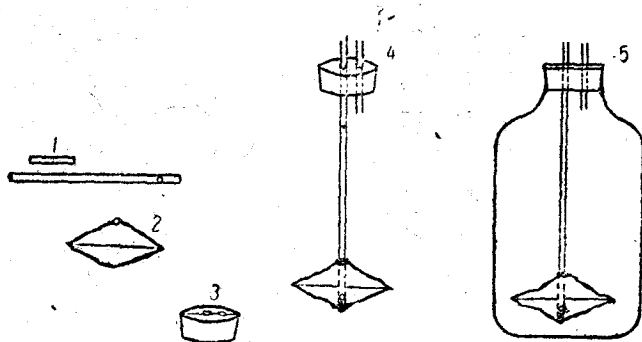


图 2 培养瓶的装置

1—玻璃管 2—布袋 3—橡皮塞 4—装配好的橡皮塞 5—装配好的培养瓶

菌，俟冷却，进行接菌培养。

2. 菌种扩大 培养前，首先将菌种在无菌接种罩内移植于 10 毫升液体培养基内，以 $28\sim 30^{\circ}\text{C}$ 的温度培养 48~72 小时（定时振荡），然后转接于盛有 200 毫升液体培养基的 500 毫升三角烧瓶内，孵育 48~72 小时（用振荡器振荡），以后再转接至盛有 6000~8000 毫升培养液的 10000 毫升大瓶中，进行通气培养。

3. 接种移植 接种时间最好在早晨空气洁净的环境内进行。接种前，在接种菌室内先行药物灭菌（0.1~0.2% HgCl 或



图 3 培养前进行高压灭菌

5%石炭酸水消毒灭菌),并开放紫外綫杀菌灯2小时,以达到无茵目的,然后再將三角燒瓶菌液移植于大瓶中。在移植时,操作要敏捷,且須穿戴灭菌衣帽口罩及預先做好其他各項严格的消毒工作。

接种室的空气消毒,除必須应用杀菌灯外,葯物消毒可用甲酫溶液(用量每1立方米容积的接种室用40%的甲酫0.2 cc)熏蒸,然后密閉2小时,再用30%的氨水(用量約甲酫体积的1.5倍)进行解毒。其裝置如图4。

4. 保温通气 保温通气室必須清洁无杂菌,最好是地板或洋灰水泥地,需要經常用0.1~0.2%的 HgCl 或5%的石炭酸水等措抹灭菌。保温室内温度,一般宜保持

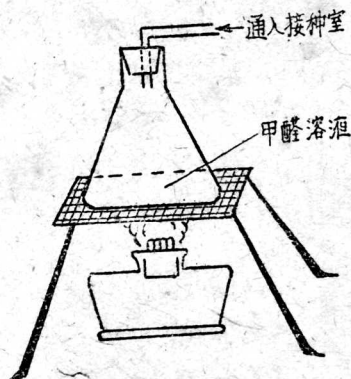


图 4 接种室的空气消毒裝置
(解毒裝置同此)

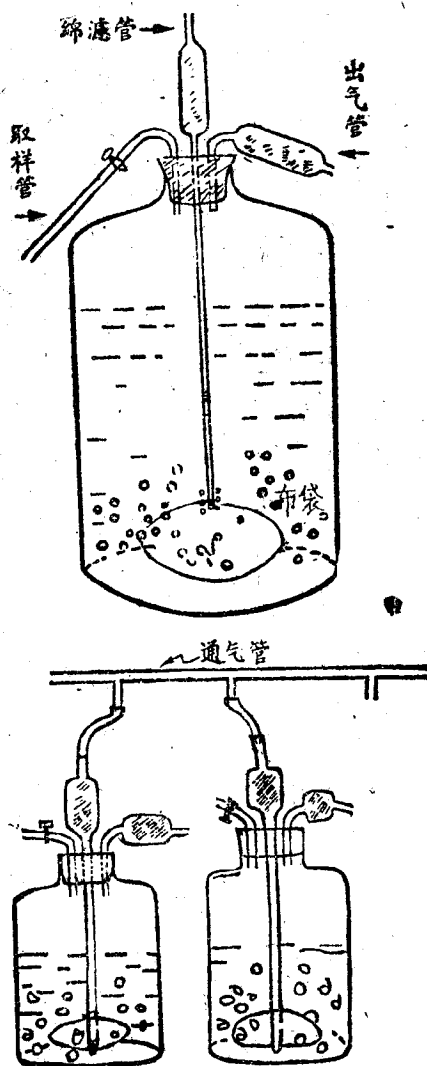


图5 通气培养 (上)单瓶装置;(下)连接装置
注:瓶内装置可参考图2(5)。

28~30°C。經我們用 701、901 兩菌種進行試驗初步結果，溫度保持在 30°C 比 28°C 為好（增菌數快，每毫升含菌量也多）。若溫度再高，則增菌數及每毫升含菌量反行降低，且菌體也會發生變形。在培養瓶內通入的空氣，必須經過繁複處理，使其能純淨清潔無雜菌。（處理方法：普通空氣→裝有殺菌燈的空氣室→吸氣過濾喇叭→風泵→總的大綿濾管→小綿濾管→10,000 毫升培養瓶）。

通入的氣泡要求均勻細小，充分密布在整個培養基中（如图 5）。這樣才能使大量的空氣溶解在培養基中，供需氣細菌吸收。空氣的通入量，一般以每分鐘通入的體積相當於培養基體積的 0.5~2 倍為最佳，通氣的時間可以採用連續通氣法，不斷進行。

5. 菌液檢驗 (1) 菌液計數——可採用紅血球計數法來計數。先用紅血球吸管吸取菌液至刻度 1 處，再吸取密司努氏液至刻度 101 處，繼而稀釋 100 倍，充分振搖後，注入計算盤，數 80 個小方格內的菌數，再乘以 500 萬，即得每毫升原菌液內的含菌數。

(2) 細菌活力檢查——取菌液 1 滴加密司努氏液 1 滴，制成懸滴標本用高倍鏡檢查。

(3) 雜菌檢查——將菌液製成切片，按格蘭氏染色法染色後，用油鏡檢查，呈陰性反應。固氮菌形態，如图 7。

[注] 1. 密司努氏液配制：

碘	7 克	碘化鉀	20 克
水	100 毫升		

2. 格蘭氏液配制：

(1) 石炭酸龍胆紫

龙胆紫饱和酒精溶液 1 份 5%石炭酸水溶液 10 份
本溶液因易起沉淀，故宜于临时配制。

(2) 碘溶液

碘	1 克	碘化钾	2 克
蒸馏水	300 毫升		

(3) 苯胺二甲苯

苯胺(即阿尼林)	2 份	二甲苯	1 份
----------	-----	-----	-----

(4) 稀石炭酸品红

齐尼二氏石炭酸品红	1 份	蒸馏水	9 份
-----------	-----	-----	-----

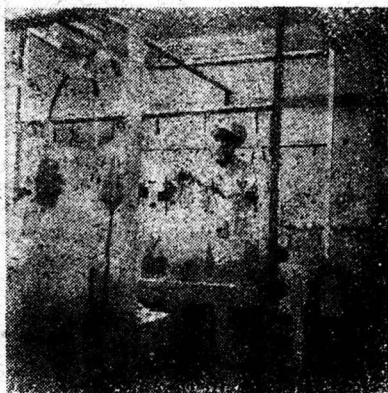


图 6 保温通气培养固氮菌

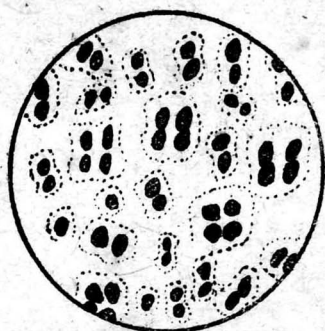


图 7 固氮菌放大形态

6. 泥炭加工 经过烘灶或太阳晒干后的泥炭，用石碾或万能粉碎机打碎，在 10~12 目筛孔下过筛，并测定其 pH 值，用石碱溶液或石灰、草木灰、煤屑等校正至 pH 7.2~7.4，方可拌菌使用。

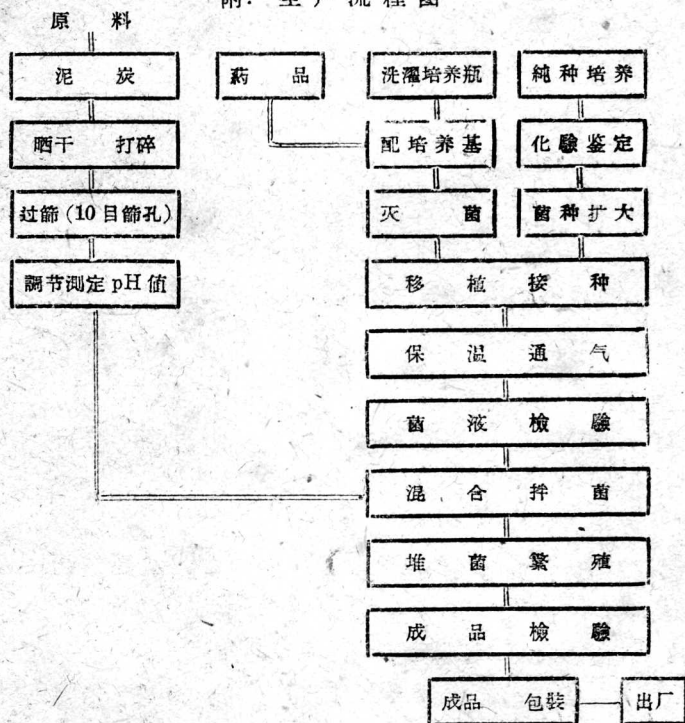
7. 拌菌和包装 将校正了的 pH 的干泥炭粉，每 100 斤加入水 20~25 斤，营养液 1000 毫升(蔗糖 2.5%， K_2HPO_4 0.2~0.4% 及微量元素 0.03%)，菌液 1000 毫升(每毫升含菌 5~10 亿个)混合搅拌，制成细菌肥料。但必须掌握其含水量在 30% 左右，

然后进行攪菌，在 $28\sim 30^{\circ}\text{C}$ 的温度下，繁殖 1~3 晝夜，經化驗鉴定，包裝出厂。包裝运输中，須注意防止干燥及阳光直射等情况。



图 8 压碎泥炭准备拌菌

附：生产流程图



五、固氮菌肥施用法

1. 拌种:

(1) 水稻——每亩稻种用菌肥 10~20 斤拌和播在秧田内，再盖上草木灰一层。

(2) 小麦、棉花等大田作物——每亩种子用菌肥 10~20 斤，加厩肥(猪、羊、牛、马粪) 30~50 斤，草木灰 1 斤，清水(淘米水) 3~5 斤，拌和后再将种子放入拌和施入土中。

(3) 油菜、蔬菜、甜菜、烟叶——播种每分地的种子，混入菌肥 1~2 斤

2. 基肥:

每亩用菌肥 10~20 斤，每斤菌肥加厩肥 30~50 斤，草木灰 1 斤，清水(淘米水) 3~5 斤拌和施用。

3. 追肥:

每亩用菌肥 10~20 斤厩肥 30~50 斤草木灰 1 斤，加清水(淘米水) 3~5 斤拌和后，施于植株附近用土复盖(参看图 9~12)。

4. 蘸秧根:

每亩用菌肥 10~20 斤，加厩肥 30~50 斤，草木灰 2 斤拌和后，蘸在秧根上，再行插秧(参考图 13~15)。

施用注意事项:

1. 菌肥不要与酸性的化学肥料(如硫酸铵)或杀虫药直接混用。

2. 贮藏菌肥，要放在阴凉通气良好的地方，避免日光直射，如发现菌肥有干燥现象，可用喷壶洒水揉松，保持菌肥原有的所