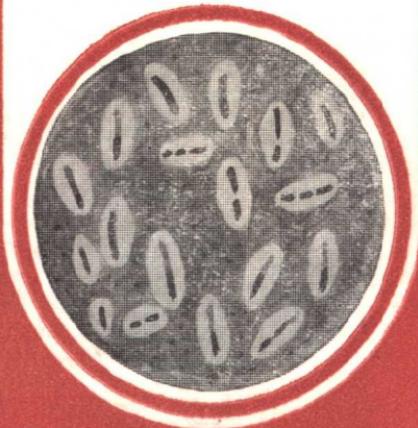


16.1736/19

钾细菌肥



农业出版社

钾 细 菌 肥

湖南省益阳地区农业科学研究所编

农 业 出 版 社

钾 钙 肥

湖南省益阳地区农业科学研究所编

农业出版社出版 新华书店北京发行所发行

农业出版社印刷厂印刷

787×1092毫米 32开本 2,375印张 46千字
1978年5月第1版 1978年5月北京第1次印刷
印数 1—21,500册

统一书号 16144·1812 定价 0.16元

目 录

一、钾与钾细菌肥	1
二、钾细菌	4
三、钾细菌肥的土法生产	9
(一) 斜面菌种的制备	9
(二) 液体扩大培养	10
(三) 固体扩大培养	13
(四) 钾细菌干菌粉的制备	15
(五) 钾细菌肥的扩大堆制	16
(六) 质量鉴定中的染色和计数	17
(七) 土法生产中的灭菌	23
(八) 土法生产中的污染及其防止方法	30
四、钾细菌菌种的纯化分离、复壮和保存	33
(一) 菌种的纯化分离、复壮	33
(二) 菌种的保藏	34
五、钾细菌新菌种的筛选	39
(一) 营养缺素培养常规筛选法	39
(二) 紫外线诱变育种法	43
六、钾细菌肥的增产效果和增产原因	48
(一) 钾细菌肥的增产效果	48
(二) 钾细菌肥增产的原因	49

七、钾细菌肥的施用量和施用方法	52
(一) 钾细菌肥的施用量	52
(二) 钾细菌肥的施用方法	53
八、钾细菌肥的有效施用条件	55
(一) 土壤含水量对钾细菌生命活动有较大影响	55
(二) 土壤酸碱度对钾细菌肥的增产效果影响不大	57
(三) 土壤施用石灰不利于钾细菌肥增产效果的充分发挥	58
(四) 氮素对钾细菌肥的增产效果是有益的.....	59
(五) 磷素与钾细菌肥增产效果的关系	61
(六) 钾素对钾细菌肥增产效果的影响	62
(七) 钾细菌肥与土杂肥堆沤施用有利于发挥增产作用	66
(八) 钾细菌肥的后效和连续施用	66
九、钾细菌肥的田间试验	69
(一) 钾细菌肥的肥效试验	69
(二) 钾细菌新菌种的田间鉴定	70

一、钾与钾细菌肥

钾与氮、磷一样，是农作物的三大要素之一。它在植株体内，主要是以无机状态存在，而不参与体内某种有机化合物的组成。它能加强作物的光合作用，有利于细胞蛋白质和碳水化合物的合成，参与原生质的生命活动，调节原生质的胶体性能；促进植物的疏导组织维管束、厚角组织、韧皮部的发育；同时能减少植物叶面蒸腾，控制植物体内的水分平衡。从而提高了植物的抗旱性和抗寒性，提高了抗倒伏和抗真菌病害的能力。

一般农作物对于钾素营养的需要量比较大。根据研究结果统计，一些主要农作物，每生产100斤产品，需要吸收氮(N)、磷(P_2O_5)、钾(K_2O)的数量如表1。

表1 主要作物生产100斤产品需要氮、磷、钾的数量(斤)

作物	氮(N)	磷(P_2O_5)	钾(K_2O)
小麦	3.0	1.25	2.5
水稻	2.4	1.25	3.1
玉米	2.6	0.86	2.1
皮棉	13.9	4.8	14.4
油菜	8.8—11.6	3.0—3.9	8.5—10.1

从这里可以看出，农作物对钾的需要量比对磷的需要量大1—3倍，与农作物对氮素的需要量差不多，某些作物甚至需要更高。

在施用氮、磷肥料的同时，施用钾素肥料，可以促使作物早生快发，根系发达，茎秆粗壮，穗大，粒多，粒重，提早成熟，增强农作物的抗病、抗逆性能，减轻水稻赤枯病、胡麻斑病、棉花红叶枯茎病、小麦赤霉病、油菜病毒病和菌核病、花生叶斑病和褐斑病、黄麻炭疽病和金边病、烟草枯斑病和花叶病等危害。另外，施用钾素肥料后，还能提高农作物的产品质量，如可提高稻谷出米率1—3%，提高红薯淀粉含量0.6—2.1%，提高油菜籽含油量5%，增加棉花纤维长度1—6毫米，增加黄麻纤维拉力，促使甘蔗含糖量增加，还可改善烟叶品质。

在我国土壤中，贮藏着非常丰富的钾素资源。据测定，土壤的全钾含量一般在1—2.5%之间，少数类型的土壤甚至高达3%。要比土壤中氮和磷的贮藏量高出10—20倍。每亩耕作层土壤以30万斤计算的话，则每亩土壤中的全钾贮量就有3,000—9,000斤之多。如果这些钾素都能为农作物直接吸收利用，则可以使用相当长的时间。但这些钾素的绝大部分是以长石、云母等铝硅酸盐形态存在于土壤中，不能够被农作物直接吸收利用。因此，有人就这样来描述这种情况，农作物虽然生长在丰富的钾素宝库里，却往往仍然是处于钾素营养不良的饥饿病态之中。

近年来，在广东、浙江、湖南、广西、福建、上海等南方省市（区）进行大量钾肥肥效试验，对几种主要粮食和经

济作物大多获得比较明显的增产效果。我们也用硫酸钾、氯化钾、窑灰钾肥、钾钙肥、三钾混合肥等钾素化肥，施用于各种作物，增产效果十分显著。水稻增产8.7—33.6%，棉花增产28.1%，苎麻增产33.3%，黄豆增产46.6%，大麦增产14.1—42.5%，油菜增产8.3—35.0%。钾肥的增产作用日益明显，钾肥的需要日益突出。

目前，钾肥在发展农业生产中的增产作用，日益被愈来愈多的生产和科学实验所证实。自力更生，土法上马，利用钾细菌，培制钾细菌肥，挖掘土壤潜在肥力，增辟钾肥新肥源，改善农作物的钾素营养条件，是促进农业生产进一步高产稳产的有效途径。

二、钾 细 菌

早在 1912 年就有人从蚯蚓肠中分离发现钾细菌，1939 年有人直接从土壤中分离出这种细菌。后来的研究，证明了这种细菌能够分解象长石、云母等铝硅酸盐类的原生态矿物，可以使难溶于水的钾转化为植物能吸收利用的有效钾，同时还能分解土壤和矿物中难以被作物吸收利用的无效磷成为有效磷，并有微弱的固氮能力。根据近年来的研究，明确了钾细菌施入土壤后，除了为作物提供速效性钾、磷、硅等营养元素外，可能还具有促使土壤结晶构造破坏的能力。多糖类物质是土壤中富有活性的团聚体，在一定程度上，水稳定性团聚体随着土壤中多糖类含量的提高而增加。土壤中的多糖类物质是土壤微生物的合成产物。因此，由果胶物质组成的钾细菌荚膜，在其菌体死亡之后，对于土壤微团聚体的粘合形成可能有促进作用。根据我们将钾细菌和钾矿粉结合施用，可以提高钾矿粉肥效的试验结果，探索利用钾细菌来分解、富集钾素以制造钾肥、为经济利用贫钾矿藏开辟新的领域，具有特殊意义。

目前研究和应用的钾细菌大致上有两类：一类是硅酸盐形态的钾细菌，这类钾细菌分离得到比较早，对它的研究工作也比较深入，目前研究和应用的钾细菌大多是属于这一

类。另一类钾细菌是非硅酸盐形态的，这是近几年来筛选获得的，我们和其他单位都曾利用营养缺素筛选法获得过这类菌株，目前尚在进一步研究之中。因此，本书主要介绍硅酸盐形态的钾细菌。

目前应用和研究较多的硅酸盐形态的钾细菌是引自中国科学院微生物研究所的 1.153 菌株和 1.231 菌株。它是与芽孢杆菌属的胶冻样芽孢杆菌相近的种。我们利用缺素培养筛选法获得的 2₍₁₎、F₁₁ 菌株也属此 硅酸盐形态的钾细菌。这类钾细菌为大荚膜杆菌，两端钝圆（图 1）；长 4—7 微米，宽 1—1.2 微米，连同荚膜长达 7—10 微米，宽 5—6 微米，甚至可有更大的大菌体。荚膜有时只有一层，有时有 2—3 层。用美蓝染色时，菌体着色深，外裹粘液状由果胶物质形成的厚荚膜不被染色。芽孢为椭圆形，位于中央，比菌体粗大。菌体中往往有 1—2 个颗粒体。用石炭酸-复红或刚果红与酸性酒精染色时易于观察到。革兰氏染色为阴性反应。在

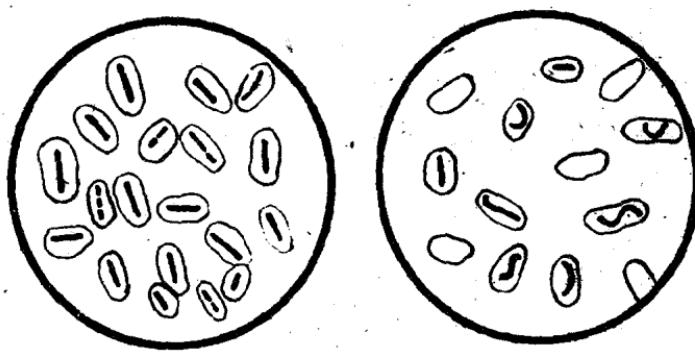


图 1 钾细菌在无氮培养基上生长形态的检验

无氮培养基上，单个菌落呈正圆形，边缘整齐，表面湿润而光滑，有光泽，隆起度大，无色透明（图2）。菌苔浓稠富有弹性，接种针挑动时可牵拉成较长菌丝。在含氮淀粉或马铃薯琼脂培养基上，菌体不形成荚膜而形成芽孢，菌落中央呈混浊状，失去弹性和牵丝状。在牛肉膏蛋白胨培养基上生长很微弱，菌体呈长杆状，不形成荚膜。



图2 钾细菌在无氮培养基上的单个菌落侧视

硅酸盐形态的钾细菌在无氮液体培养基中，菌体繁殖后形成粘稠的菌胶团，与培养基中的碳酸钙纠结在一起，沉于底部，不易摇散，液面不形成菌膜，也不产生气泡，培养基上层完全清亮透明。在含氮淀粉液体培养基中，菌体繁殖后形成均匀的悬浊液，不产生菌胶团，易形成芽孢，液面也不产生菌膜和气泡。

硅酸盐形态的钾细菌对环境条件的适应性强，对营养条件要求不高，可以在一般微生物无法生长的极为贫乏的基质（如仅有少量磷矿粉和蔗糖的蒸馏水）中生活。对于碳源的利用范围较为广泛，如葡萄糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、可溶性淀粉等均可利用。在利用时不产生明显的酸，pH（酸度值）仅下降0.2—0.8。糖多，荚膜粘液也多。能在无氮培养基上很好地生长，但固氮力不高，每利用1克糖仅固定1.3毫克氮。不能很好地利用有机氮源。在麦芽汁中生长不好。对灰分元素有特殊利用的能力，可在无速效磷、速效钾而仅有少量磷矿粉或钾矿粉条件下旺盛生长。

硅酸盐形态的钾细菌为兼性需氧细菌。培养最适温度为

25—28℃。营养体在60℃时可存活10分钟，芽孢100℃可存活20分钟。最适pH为7.0—7.2，pH低于5或高于8则生长受抑制。

将硅酸盐形态的钾细菌芽孢移接到新培养基上，经8—12小时后，就能发芽形成带荚膜的小杆菌，然后由小杆菌发育成典型的大荚膜杆菌，并继续发育裂殖成许多小杆菌。这就是硅酸盐细菌的发育史。在培养时间较长（一个月以上）时，也可发现荚膜内杆菌伸长，逐渐弯曲成弧形、C形或S形等畸形，这可能是环境不利于菌体裂殖而伸长形成的。

各地土壤中和作物根际都能找到这种形态的钾细菌。据测定，一般农田土壤中，每克土壤中可有几千到几万个。如北京的小麦田中，每克干土有0.9—2.5万个，河北邯郸的棉花田有0.3万个，湖北武昌的水稻田有0.2—2.5万个。

硅酸盐形态的钾细菌对无效钾和无效磷有一定的矿化能力。我们在无氮液体培养基中，以钾长石为唯一钾源和以磷矿粉为唯一磷源的情况下，接种钾细菌与不接种钾细菌的均在28℃下培养4天，然后分别同时用亚硝酸钴钠比浊法测定速效钾、用钼蓝比色法测定速效磷的含量；另一方面取稻田土壤灭菌后再接种钾细菌与不接种钾细菌培养4天后，同时测定速效钾、磷的含量。测定结果证明这两株钾细菌对钾、磷矿石和土壤均有释放速效钾和磷的有益作用，接种钾细菌的速效钾和速效磷的含量，比未接种钾细菌的高出一倍左右（表2）。

关于硅酸盐形态的钾细菌能分解含钾矿物的机制，华中农学院在钾细菌溶解磷灰石的研究中，发现钾细菌的大量菌

表 2 钾细菌对钾、磷矿石和土壤中难溶性钾、磷的分解功能

处 理		速效钾含量 (ppm)		速效磷含量 (ppm)	
		I	II	I	II
无氮培养基分别以0.05%的钾长石粉和0.05%的磷矿粉作唯一钾源和磷源，培养4天	接种菌株号	1.153	15	10	10
		1.231	10	10	12.5
稻田土壤灭菌后培养4天	不接种钾细菌		5	5	7.2
	接种钾细菌		162	102	112
	不接种钾细菌		60	84	64
					96

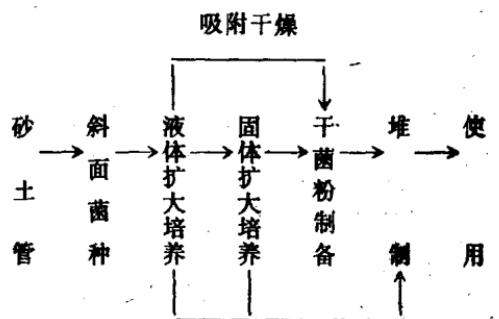
胶团围绕矿物颗粒而取得磷钾养料，钾细菌不产生酸性反应，在用火棉胶将钾细菌和磷灰石分开时，钾细菌不能生长，磷灰石也不能分解。因而认为钾细菌利用岩石矿物养分的途径可能有两个：(1) 钾细菌和矿石接触并产生特殊的酶，破坏矿石结晶结构而释放出其中的养分；(2) 钾细菌和岩石在岩石矿物表面接触而进行交换作用。也有人认为，钾细菌分泌出来的有机酸如乳酸、琥珀酸、柠檬酸以及其他各种氨基酸，都能和钙、铁、铝等金属离子形成一些较相应的磷酸盐更稳定的有机化合物——金属有机酸综合体，从而增加了难溶性磷酸盐的溶解度。

钾细菌很可能就是这样通过上述几种途径把长石、云母等铝硅酸盐矿物晶格中的钾释放出来。一大部分钾为其生命繁殖活动所需要，组成其菌体成分。在菌体灰分中的钾含量可高达33—43%。这种在菌体内的钾，在菌体本身死亡之后，又从菌体内游离出来，可为植物所吸收利用。另一部分钾从矿物晶格中释放出来以后，直接为植物吸收利用。

三、钾细菌肥的土法生产

钾细菌肥的土法生产比较简便，原料可以就地取材，来源广泛，成本低廉，凡生产过“九二〇”和“五四〇六”等微生物制品的地方，都可成功地生产出来。

钾细菌肥的生产方法为：砂土管→斜面菌种→液体扩大培养→固体扩大培养→菌肥扩大堆制。土法生产流程：



(一) 斜面菌种的制备

制备斜面菌种的目的，是活化菌体，使菌体或芽孢从休眠状态回复到生命旺盛活跃阶段，并繁殖扩大菌体数量。

1. 斜面培养基成分：

蔗糖	10 克
磷酸氢二钾	0.5 克
硫酸镁	0.2 克
氯化钠	0.2 克
碳酸钙	1.0 克
酵母片	0.4 克
琼脂	15—18克
洁净水	1,000 毫升

2. 操作方法：

先将各成分溶入水中煮沸，加入琼脂，使之溶解，分装试管，塞上棉塞，外包牛皮纸。以 1.05—1.1 公斤/厘米² 的压力灭菌 30 分钟或以蒸汽间歇灭菌 3 次。趁热放成斜面，待凝固冷却后接种。置 26—30℃ 下培养 3—4 天。斜面上即可生成粘液状无色透明菌苔。

3. 斜面菌种的鉴定：

无杂菌污染的斜面菌苔是无色透明，表面具光泽，边缘整齐，粘液状的凸起。用接种针挑动能拉起较长的菌丝。用美蓝染色镜检为具有不被染色的荚膜的杆菌，或可用石炭酸-复红染色进行镜检。革兰氏染色呈阴性。也可用荚膜染色法来区别荚膜和菌体。如失去这些特点，或有其他颜色、特点不同的菌落，则说明已产生污染，不能作生产用。

（二）液体扩大培养

步骤是进一步扩大菌种量，为固体生产、干菌粉制备或堆制使用作准备。

1. 培养基成分：

(1) 无氮培养基：

蔗糖	5.0 克
磷酸氢二钾	0.2 克
硫酸镁	0.2 克
氯化钠	0.2 克
硫酸钙	0.1 克
碳酸钙	5.0 克
洁净水	1,000 毫升

也可用下列代用品配制培养基试用：

蔗糖	5 克
钙镁磷肥（或磷矿粉）	0.2 克
长石粉	0.2 克
食盐	0.2 克
石膏粉	0.1 克
石灰石粉（或贝壳粉）	5.0 克
洁净水	1,000 毫升

调整其 pH 为 7.2—7.4。

(2) 淀粉铵溶液培养基：

可溶性淀粉	5.0 克
硫酸铵	1.0 克
硫酸镁	0.5 克
磷酸氢二钾	2.0 克
碳酸钙	0.1 克
酵母粉	0.2 克
1% 三氯化铁溶液	30 滴
洁净水	1,000 毫升

2. 操作方法：

按配方称好，充分溶解搅匀，每250毫升三角瓶（或其他能耐高温高压的细口瓶）装100毫升培养液，塞上棉塞。同样以1.05—1.1公斤/厘米²的压力灭菌30分钟或间歇灭菌三次。冷却后，用斜面菌种或液体种子液接种。置26—30℃下培养3—4天，即可作液体种子或直接施用。

3. 液体培养基的选择：

上述两种培养基，经多次培养观察比较，各有特点。

用无氮培养基时，①可以静置培养，生长良好，这样可以减少振荡设备；②菌体将瓶底的碳酸钙沉淀物胶结成难以分散的菌胶团，如受杂菌污染则菌液底部不能形成牢固的菌胶团，因此易于目测观察其生长优劣；③将无氮液体培养菌剂接入固体后一般生长繁殖较快，但它在作液体种子或直接施用时难以分散均匀；④培养基需以糖作碳源。

用淀粉铵溶液培养时，①需要振荡培养，每天定时摇瓶5—6次或用振荡设备进行；②钾细菌在淀粉铵培养液中形成芽孢，能增强其抗逆力；③用淀粉铵种子液接入固体培养基，一般生长稍慢，这可能与促使其形成芽孢有关。且菌液均匀，分散容易；④用淀粉作碳源，来源广泛，如淘米水等均可用来代替。

进行液体培养时，采用何种培养基，可根据具体条件来选择。

4. 液体菌剂的鉴定：

用无氮培养基培养的钾细菌液，无杂菌污染时，则菌体与碳酸钙沉淀物在瓶底形成难以摇散的菌胶团，上层菌液呈无色清亮透明粘稠度较大的液体。如生长不良，或有杂菌污