

肥料丛书

细菌肥料的生产与应用

張家口医学院菌肥厂 編

郑家齐 刘健宇 执笔



河北人民出版社

內 容 提 要

本書較具体詳細地介紹了固氮菌、根瘤菌和抗生菌的特性、制造方法、使用方法和增产效果。对微生物的一般知識、显微镜檢查細菌的方法、磷細菌的制造和使用，以及建立菌肥厂的主要設備等，也都作了簡要的敘述。

肥料丛书

細菌肥料的生产与应用

張家口医学院菌肥厂 編

郑家齐 刘健宇 执笔

河北人民出版社出版（保定市裕华东路） 河北省書刊出版业營業許可証第三号

河北人民出版社印刷厂印刷 河北省新华書店发行

787×1092 1/32 • 2 $\frac{1}{2}$ 印張 • 55,000字 印数：1—2,100册 1959年6月第一版

1959年6月第一次印刷 統一書号：T16086 • 214 定价：(5) 0.18元

目 录

第一章 微生物学的一般概念.....	1
第一节 微生物的形态.....	1
第二节 细菌的生活特性.....	3
第三节 微生物的检查方法.....	5
第二章 固氮菌剂.....	25
第一节 固氮菌的特性.....	25
第二节 固氮菌剂生产方法.....	26
第三节 固氮菌剂的应用及增产效果.....	42
第四节 土法自制固氮菌肥的方法.....	46
第五节 固氮菌与矽酸盐菌混合菌剂.....	50
第六节 固氮菌剂使用方法.....	51
第三章 根瘤菌剂.....	52
第一节 根瘤菌的特性.....	53
第二节 根瘤菌剂的生产.....	54
第三节 根瘤菌剂的应用及增产效果.....	56
第四章 抗生素肥料.....	62
第一节 菌粉制作法.....	63
第二节 餅土母剂的制造法.....	65
第三节 餅土母剂半消毒与不消毒制造法.....	67
第四节 餅土母剂的检查方法.....	68
第五节 抗生素肥料的使用方法.....	69

附录

一、磷細菌剂

二、年产150吨細菌肥料厂的主要器材和原料

第一章 微生物学的一般概念

第一节 微生物的形态

一、微生物的种类

(一) 細菌。

(二) 真菌。

(三) 螺旋体。

(四) 原虫。

(五) 病毒。

(六) 立克次体。

細菌肥料主要是指上述的第一种而說的，因此，在微生物的形态和生理方面，就以叙述細菌为主。

二、細菌的形态

細菌是植物当中极小的一种沒有叶綠素的单細胞有机体，也有一部分是多細胞的。細菌是比較小的东西，通常我們衡量細菌大小的单位叫做“微米”（一个微米等于千分之一毫米），象固氮菌的大小，也只有2—6微米。

細菌的形态很不一样，有的象球形，有的象杆状，也有的象螺旋形。因此，我們常常把細菌分为三种基本的形态：

第一类是球菌：它們的形态很象小球，但是，由于它們的分裂方向不同，而又現出了不同的組合。

单球菌本身就只有一个細胞。由两个单球菌組成的就是双球菌。如果是細菌連續的向着一个方向分裂，而細胞又不



图1 細菌基本形态

- 1.葡萄球菌 2.3.双球菌 4.鏈球菌
5.四联球菌 6.八联球菌 7.8.9.桿
菌各种形态 10.孤菌 11.12.螺旋菌

分开，这就形成鏈球菌。还有的細菌是向着两个或三个互相垂直方向分裂，而細胞又不分开，結果形成四联球菌或八联球菌。如果是細胞无規則的交替向着不同的方向分裂，結果就形成象一串葡萄一样的葡萄球菌(参看图1)。

第二类是杆菌：它們的外部形态都是杆状的，接着它們的排列，在杆菌中可分为单杆菌、双杆菌和鏈杆菌。也有两头尖尖的象織布的梭子似的梭状杆菌(见图1)。

第三类是螺旋菌：它們的外形都有点弯曲，呈逗点状的叫孤菌，由一个或数个相似的螺旋組成。象螺旋瓶塞子样的叫螺旋菌(见图1)。

三、細菌的构造

細菌体积小，一般是不易辨別其詳細构造的。細菌具有很薄的細胞膜，在膜內有呈胶体状的原生質，并有核及含有无机、有机的內含物所組成的。某一些細菌还有些特殊构造。

(一) 荚膜：在細菌外面附上一層很厚的胶状物質，染

色时着色比菌体浅的粘液层叫荚膜，是細菌的防禦裝置（見圖2）。

（二）鞭毛：鞭毛是細菌運動的器官，但是用普通染色是看不見的，只有特殊方法才能看見（見圖2）。

（三）芽胞：是一種保護細菌的裝備，它對溫度、乾燥及化學藥品等抵抗力都很強，有時在乾燥環境中能保存十幾年。

以上這些都是一些特殊構造，不是所有細菌都具有的（見圖2）。

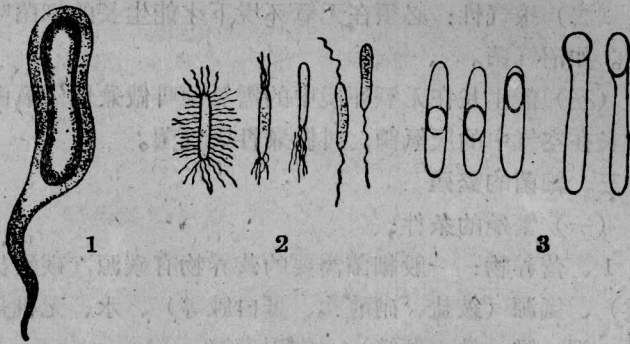


圖2 細菌的構造

1. 菌體構造：荚膜、細胞壁、原漿、鞭毛 2. 各種鞭毛菌 3. 細菌芽胞

第二節 細菌的生活特性

一、細菌的營養方法

（一）自營菌：自營菌是自給自足的，它們不依賴於有機物而存在，它們能夠從二氧化碳中轉化成碳，以及從某些鹽類轉化氮。就象綠色植物用葉綠素光合作用來吸收碳一

样，能从某些无机物的氧化中获得能，而将简单的化合物转变为复杂的化合物。

(二) 異营菌：依靠有机物和无机物来供应生活资料(如碳、氮等)，才能生存和繁殖的一类細菌。

二、細菌的呼吸形式

細菌的呼吸形式，由于对氧气的需要不同而分成三个类型：

(一) 好气性：必須在有空气的环境才能生活的細菌叫好气菌。如固氮菌。

(二) 嫌气性：必須在无氧环境下才能生长的細菌叫嫌气菌。如沼气菌。

(三) 能生长在无氧环境中的需氧菌叫做兼性需氧菌。能生长在空气中的厌氧菌，叫做兼性厌气菌。

三、細菌的繁殖

(一) 繁殖的条件：

1、营养物：一般細菌需要的营养物有碳源(碳酸盐、酯类)、氮源(鉍盐、硝酸盐、蛋白胨等)、水、无机盐类(磷、鉀、鎂、鉄、鈣等)、維生素等。

2、酸碱度：一般細菌适合的酸碱度多在7.0—7.6的范围内(即中性)。

3、溫度：土壤微生物生活在20—30℃較好，致病微生物大多在37℃，但也有些細菌能生长在高温环境中。如堆肥的微生物。

4、气体：需氧菌在有氧情况下才能生长。二氧化碳也很重要，因为它是自营菌碳的来源。

(二) 繁殖方式：最普通的繁殖方法是二分裂法，就是一个細菌分裂成两个，而后再分成四个、八个……等，如此繼續

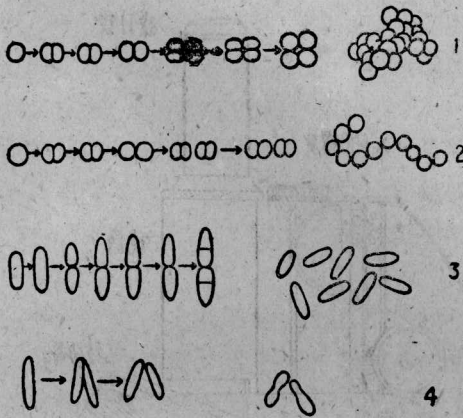


图3 細菌的繁殖方法

1. 球菌的繁殖 2. 鏈球菌繁殖 3. 桿菌繁殖 (橫裂) 4. 桿菌的繁殖 (縱分裂)

下去。球菌是沿着一个平面或几个平面分裂的；杆菌則是沿着橫軸分裂的。細菌的繁殖速度是惊人的，有些細菌繁殖很快，每十七分鐘就分裂一次（見图3）。

第三节 微生物的檢查方法

一、显微镜检查法

（一）显微镜能够放大用肉眼所看不見的微小物体，是一种复杂的光学仪器。在微生物学中無論是死的、活的、染色的或不染色的微生物，都可通过显微镜来研究。通过显微镜上配置的光学玻璃装置，可把被检查的东西放大数百倍，甚至数千倍。这样即可很容易的分別出这些微小物的形态与构造。

显微镜在构造上主要可分两部分，即机械部分与光学部分（見图4）。

1、显微镜的机械部分：显微镜的机械部分主要有鏡座、鏡筒、旋轉动器、載物台、大小螺旋等。

在显微镜的最下部分是鏡座，成馬蹄形，是由重金屬所

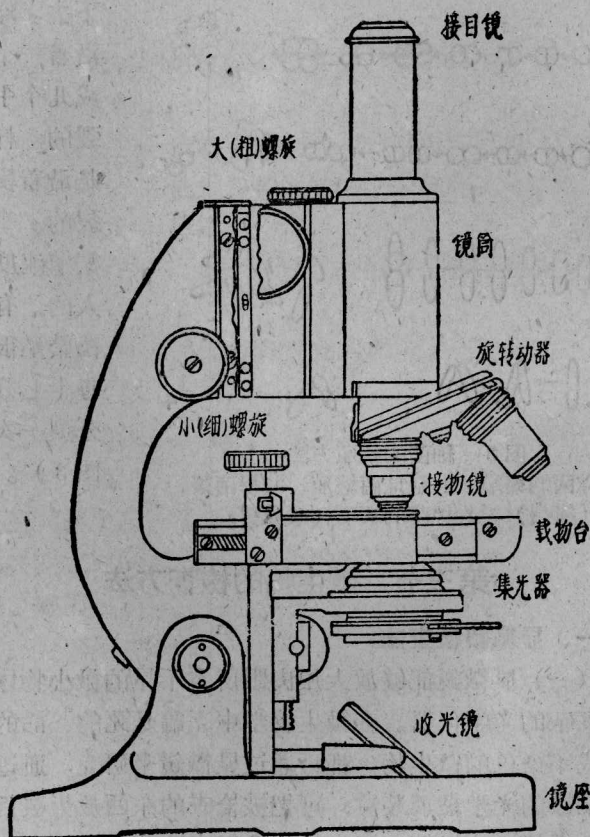


图 4 显微镜

組成的，以保持显微镜最大的稳定性。显微镜的前面装有直立着的圆筒，为鏡筒，鏡筒里固定着放大被检物体的接物鏡与接目鏡。鏡筒又可借着两个大小（或称粗細）螺旋的作用，而向上下移动。鏡筒的构造是由两个圆筒所組成，一个筒插入另一个筒內。在內筒上有以毫米計算的刻度，可以确

定鏡筒一定的长度。鏡筒抽出較长时，可以得到較大的放大倍数，但是可显著地影响到映象的清晰性。大多数的接物鏡在鏡筒长160毫米时，呈現好的映象。

在鏡筒的下面，装有一个圓錐形、且可左右移动的轉动器，上面有3—4个圓孔，可装置接物鏡使用。由于轉动器可按着自己的軸而轉动，因此有按着需要而获得或大或小的放大倍数。

此外，还有一个圓形的或方形的載物台。台的中央有一圓孔，可使光綫透过，台上同时有两个夹板，以固定玻片。也有在載物台上装有可使玻片标本前后左右移动的推进器，使标本不同部位都有检查到的可能性，而不必用手使其移动。

2、显微鏡光学部分：显微鏡光学部分是其最主要的部分，由接物鏡、接目鏡、聚光器、反光鏡等所組成。各种光学装置的配合，可使被检查物体放大倍数随意調整。

接物鏡是显微鏡最宝贵的部分，装置在鏡筒下端的轉动器上，每一个接物鏡都是由数个透鏡所組成。在接物鏡的外套上，常标记着它們放大的标志（ $8\times$ 、 $45\times$ 、 $100\times$ 等），它們放大程度一方面是决定于透鏡前面鏡的曲率，另一方面决定于焦点距离的长度，前面鏡子的曲率愈大，焦点的距离愈短，則接物鏡的放大倍数愈高。

在細菌学检查中使用的显微鏡，其接物鏡可分为干燥与油浸鏡。

使用干燥鏡时（ $8\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$ 、 $40\times$ ），在接物鏡与被檢驗物中間是一层空气，由于空气有着不同的折光率，因此，光綫通过空气层即相应的曲折，只有部分光綫进入接物鏡，而不能全部进入。

使用油浸鏡時，因其晶片太小，則光綫由反射鏡到達接物鏡的路途中，經過不同曲光率的环境，大部分光綫由空氣進入玻片，而後又重新進入空氣，光綫通過不同環境時被曲折，這樣就把光綫分散而不進入接物鏡。所以，为了不使从被檢物體中進入接物鏡中的光綫分散，通常是被檢物體的上面滴一滴香柏油，然後轉動粗螺旋，將接物鏡浸放油滴中。這樣在被檢物體與接物鏡間的空隙中充滿着香柏油，由于香柏油與玻片的曲光率相仿佛（折光率為1.25），而能使光綫達到最小限度的分散，使物體得到最大清晰。

接目鏡，裝于鏡筒的上端，與觀察者的眼睛接近，所以叫做接目鏡。因其擴大倍數的不同，在其上面有各種不同的號碼，如 $6\times$ 、 $10\times$ 、 $12\times$ 、 $15\times$ 等，為了便利指示物象起見，可在目鏡中裝上細黑絲一根，作為指針。

接目鏡的構造，由兩個透鏡所組成，上面的一塊透鏡向著眼睛，稱為集合鏡。兩透鏡的距離等於它們焦點距離的一半，因此根據接目鏡的長度可以大概測定總的焦點距離，因為焦點的距離縮小時，就增強了接目鏡放大力，接目鏡的放大力愈強，其焦點距離也愈短，放大力愈弱，其焦點距離也就愈長。

接目鏡的作用只能放大从接物鏡所得到的被檢物體的映象，而不能直接放大被檢物體。

顯微鏡總的放大倍數是由接物鏡與接目鏡兩者放大的倍數相乘的積來決定的。

集光器，裝于載物台下面，可以上下移動。其作用在於聚集光綫于物體上，以增強照射之光綫。

集光器的構造，由幾個透鏡所組成，它可以将反光鏡所反射的光集成一束，直接達到標本的平面上。在集光器的下

部，裝置有可以收縮的虹彩，利用這個虹彩，可以改變光綫的明暗。在顯微鏡的檢查中，照明的改變一方面是決定於標本本身的厚度以及染色等，另一方面也決定於當時採用的光學系統。

反光鏡，裝於顯微鏡的最下方，有平凹兩面，可以自由翻轉用以採取光綫和調節焦點。平面鏡可以在白天的光綫中和放大倍數大的時候使用。凹面鏡可以在人工光綫中或者白天光綫中放大倍數小的時候使用。

(二) 顯微鏡的使用與保護法：

1、光源：因直射光綫有損鏡頭與眼睛，所以一般採用北面窗戶射入的自然光為好，夜間可利用電燈或顯微鏡燈。

2、對光：用細軟綢子或鏡頭紙擦淨顯微鏡光學部分，再將集光器旋上，光綫放大，將低倍鏡下降到一定距離（一般距離載物台二厘米處），眼看目鏡中，以右手翻動平面反光鏡，直至獲得均勻而明亮的視野為止。反光鏡在自然光綫情況下用平面，人工光綫時則用凹面。

3、油浸鏡之使用：首先於染色標本上加油一滴（不必太多）後，將玻片置於載物台上，用夾板固定，然後兩眼從側方注視鏡頭，以右手轉動粗螺旋，使鏡筒慢慢下降，使鏡頭恰與油面接觸，稍稍浸入為止（切勿觸及玻片，以免損壞標本及鏡頭）。這時可用左眼自接目鏡中觀察，同時，慢慢的轉動粗螺旋，使鏡筒上升，待看到模糊影象時，再改用細螺旋上下調節，直到獲得清晰物象為止。必要時，還可繼續調整光綫，以獲得適當亮度。

4、顯微鏡使用後的處置：顯微鏡用畢後，上旋鏡筒，將標本取下，然後再將標本投入清潔液中。如為保存的染色標本，則應用鏡紙蘸上二甲苯輕輕擦去玻片上的鏡油，然後

放入标本盒內，加以保存。

显微鏡所有的光学部分，切不可用手指、粗布或普通紙張拭擦，要用軟綢或鏡紙拭擦，有油液干結于鏡头上时，可用鏡紙蘸上少許二甲苯进行拭擦，然后又必須另用一張紙拭去鏡头上的二甲苯。鏡头拭淨后，將接物鏡头旋轉成八字形下降到最低限度，同时将集光鏡落下。

搬運显微鏡时一定要端平，切勿单手斜提，以免反光鏡或目鏡脫落破碎，而損害国家財產。

(三) 显微鏡检查法：

把标本直接放到显微鏡下研究，称作显微鏡检查法（即鏡检）。利用这种方法可以研究未染色状态及染色状态的微生物。利用染色法，我們可以获得有关微生物的大小、形状、构造以及某些生活过程等（芽孢形成、运动与分裂等）情况。鏡检可分为未染色微生物的检查 and 染色微生物的检查。

1、未染色标本的检查：未染色状态的微生物，是利用压滴标本或悬滴标本在暗視野下进行研究的，或在阴象标本中（墨汁法）观查。

(1) 压滴标本的制作：系在載物玻片的中央，用吸管或白金耳放上一滴被检材料（細菌的生理盐水浮游液或肉湯培养物等），然后用盖玻片压上，但勿使其发生气泡，以免妨碍检查。用此法进行鏡检，可使用高倍鏡，同时稍降低集光器或者縮小虹彩，迅速的以干燥鏡进行，因材料易干。这样，即可在显微鏡下見到灰暗背影中有处于各种不同位置的活細菌。

(2) 悬滴标本的制作：要用帶有圓凹穴的載物玻片及盖玻片。其制作法：

①取洁淨的凹窩玻片，用火柴杆在凹窩周围薄涂凡士林。

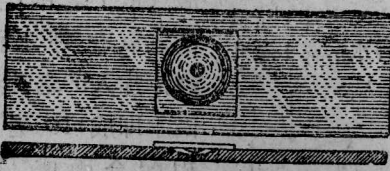


图5 悬滴标本

与凹窩周围之凡士林边缘完全接触，此时菌液悬浮于凹窩中間（图5）。

③检查时先将光圈缩小，先用低倍物鏡，找見悬滴边界綫，然后移到視野中心，并上下移动集光器，使光綫不强不弱，获得适当光亮，然后换以高倍鏡，用小螺旋調节至检查物清楚为止。

④检查完毕后，如系致病細菌，应放消毒水內，然后煮沸，洗干淨。

⑤有运动性的細菌，可以变更方向，变换位置游来游去，而始終不离原位置的上下左右跳动，这叫做分子运动。

2、染色微生物检查法：染色方法也就是用一些染料使細菌染上不同的顏色，便于观查。大部分細菌都用染色的方法进行检查。这一方法能够研究各种細菌形态及其大小，以及研究它們构造的特征。在个别的情况下，甚至于可以准确的断定被研究的微生物属于何种。

（1）常用染色液的配制：

①石碳酸复紅：将1克碱性复紅溶解在装有5克石碳酸的容器內，然后加入10毫升酒精，最后再加入100毫升蒸馏水。将染液放置两昼夜后，用滤紙过滤即可使用。

②碱性美兰：取飽和美兰酒精染液30毫升（用2克美兰加于100毫升95%的酒精內），与1：10000的氢氧化鉀水溶

②用无菌白金耳鉤取細菌的液体置于盖玻片的中央，然后将盖片翻轉使水滴向下，悬盖于凹玻片的凹窩上，同时輕輕加压，使盖玻片

美兰 2 克 + 95% 酒精的毫升

蒸馏水 99 毫升 1% 氢氧化钾水溶液 1 毫升

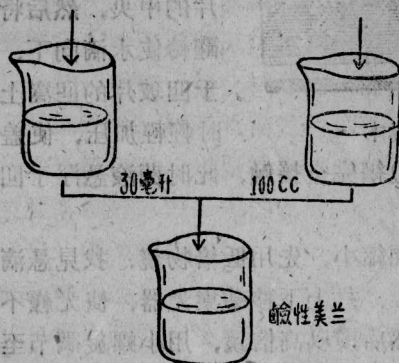


图 6 碱性美兰配制图解

克溶解于 5—10 毫升的蒸馏水中，然后再加入碘片 1 克，待其溶解后，再加入蒸馏水到 300 毫升为止。

⑤ 结晶紫液：结晶紫酒精饱和液（2 克结晶紫溶于 20 毫升 95% 酒精内）20 毫升，加入 1% 80 毫升草酸铵水溶液即成。

（2）染色标本的制作：制做标本的顺序如图 7 所示。

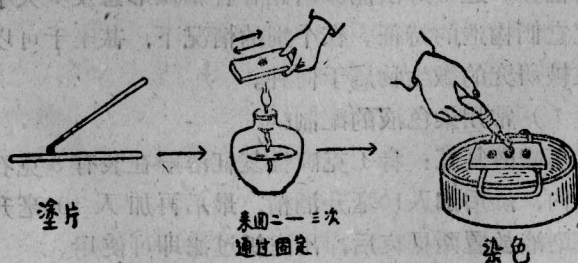


图 7 染色标本制作

标本的制做要用非常干净的玻片，只有当水滴在玻片的

液（取 1 毫升 1% 的氢氧化钾水溶液，加入 99 毫升蒸馏水即成）100 毫升相配合而成（图 6）。

③ 稀释石碳酸复红：将石碳酸复红溶液，用蒸馏水稀释 10 倍即成。

④ 卢戈氏碘溶液：先将碘化钾 2

表面不形成球形水滴而很容易流开时，才能認為玻片是干净的。

制做标本时先在玻片上滴一滴蒸馏水，再在上面滴点要检查的液体或少量的培养基菌苔。液体可用灭菌吸管吸取，而細菌則須用灭菌后放凉的白金耳取出。涂片后即于室温下使其干燥。

经过干燥后的标本，即进行固定，固定的目的主要有三个。一方面经过固定后可以杀死微生物，另一方面还可保证微生物能够更好的附着于玻片上，而不致于被冲洗掉。第三个目的，是使标本易于染上颜色。因为死的原生质比活的原生质易于染色。在細菌学的操作上最常用的固定方法就是热固定。其方法是，用大姆指和食指拿住标本从酒精灯的火焰上部迅速通过2—3次即可，但未干燥的涂片不可用此方法固定。

除热固定外，也常用酒精固定10—15分钟，一般常用浓酒精（90%），因为它能够很快杀死細菌細胞，而使蛋白質发生凝固。

固定完了之后的标本即可进行染色，将染液倒在玻片上，经过适当的染色时间后，再将染液倒掉，用水冲洗标本，晾干或以滤纸吸干，使染色后的标本绝对干燥。

（3）检查方法：見固氮菌剂成品检查。

二、細菌的培养方法

（一）培养基：培养細菌就是使細菌能够旺盛的繁殖，因而必須供給充足的营养物質，如：固氮菌需要給碳源、水、无机盐类，并維持一定的酸碱度。所以培养基，就是营养料制成的一种混合物。但是由于細菌种类繁多，所需营养条件的不同，因此培养基的种类也是很多的。有的利用細菌

分解产物，使某种指示剂发生改变，而进行細菌鉴别的鉴别培养基，和利用某些藥品限制某些細菌生长的选择培养基。但是不管任何培养基，大体上均不外乎是液体或固体。固体培养基中根据加入之凝固剂的不同可分为琼脂培养基、明胶培养基等。而常用之固体培养基由于凝固剂量的不同，又可分为固体和半固体培养基。而固体培养基由于凝固外形及应用之不同又分为斜面 and 高层培养基。总之培养基种类很多，但其制备原則不外乎下列三点：

1、必須含有足够的营养料。

2、适宜的酸碱度。

3、絕對灭菌。

(二) 培养基氢游子浓度測定 (PH測定) 及其比色管的制备：为了适合細菌生长需要，制成的培养基，都应该矫正至一定的酸碱度。測定方法有很多种，最常用的就是标准比色管法，这种方法主要就是选择一定指示剂与一定量的缓冲液，配制各种PH值的比色管，然后用这种比色管来測定培养基的酸碱度。

指示剂种类很多，常用的指示剂是酚紅，因为酚紅变动范围在PH6.8—8.4，而一般細菌所适宜的培养基，其酸碱度均属于这个范围之内。酚紅最为常用，但在作某种专用培养基或一些样品的酸碱度測定时，其反应需要酸度和碱度更高一些时，就得改用其它指示剂。茲将某些指示剂和它的PH变动范围列表如下（見表一）。