

# 有机肥发酵剂应用效果的研究\*

## I. 有机肥发酵剂菌种的筛选

张洪权<sup>1</sup>, 石凤善<sup>1</sup>, 张春峰<sup>1</sup>, 贾会彬<sup>1</sup>, 刘峰<sup>1</sup>, 赵永勋<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农科院合江农科所 佳木斯 154007; 2. 佳木斯大学师范学院)

**摘要:** 从黑龙江省佳木斯市四丰山林土样品、合江农科所内腐熟有机肥样品及日本产的 EM (Effective Microorganisms) 中分离筛选出 12 个菌株, 进行了碳源滤纸崩溃试验, 鉴定出 4 个高效菌株, 并进行了形态特征观察。在不同培养基条件下进行了纤维素酶、蛋白酶、淀粉酶的酶活力测定, 将上述 4 个高效菌株配制成 6 个组合, 并分别测定了每个组合 3 种酶活力, 其中 I (F-1, F-4) 和 II (F-1, F-3) 两个组合 3 种酶的综合性能较好, I 和 II 两个组合中 F-1, F-3, F-4 三种菌株混合一起, 作为有机肥发酵剂的菌种, 研制出了有机肥发酵剂的工艺流程。

**关键词:** 高效菌株; 有机肥发酵剂

**中图分类号:** S141 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2000)06-0005-03

## Studies on the effect of the yeast for organic fertilizer

### Part I Selection of the yeast strains for organic fertilizer

ZHANG Hong-quan<sup>1</sup>, SHI Feng-shan<sup>1</sup>, ZHANG Chun-feng<sup>1</sup>, JIA Hui-bin<sup>1</sup>,  
LIU Feng<sup>1</sup>, ZHAO Yong-xun<sup>2</sup>

(1. Hejiang agricultural institute, Heilongjiang academy of agricultural sciences 154007; 2. Normal college, Jiamusi University, China)

**Abstract** Twelve strains were isolated from samples of forest soil from Sifeng Mountain in Jiamusi city, samples of rotten organic fertilizer in Hejiang agricultural institute, and EM made in Japan. The experiment of the filter collapse was conducted, and 4 strains were determined. The morphological character of the strains was observed. The enzyme activity of cellulolytic enzyme, amylase and proteinase were analyzed under different media. The 4 strains were arranged into 6 groups, and the ac-

\* 收稿日期: 2000-08-03

基金项目: 省科委资助项目。

作者简介: 张洪权 (1966-), 男, 助研, 从事土壤肥料和作物栽培研究。

线。寒地水稻不同部位子粒的最大灌浆速率、平均灌浆速率、最大灌浆速率期均有明显差异。先开花的优势粒最大灌浆速率为单峰曲线; 而晚开花的弱势粒的最大灌浆速率为双峰曲线。

优势粒的最大灌浆速率期早, 而弱势粒的最大灌浆速率期晚; 优势粒的灌浆期短, 最终粒质量高; 弱势粒的灌浆期长, 最终粒质量低。

最大灌浆速率期与最大灌浆速率及平均灌浆速率呈显著负相关关系。

参考文献:

- [1] 王天铎. 水稻子粒灌浆过程中粒重分布动态研究. 子粒灌浆能力的不可逆变化 [J]. 植物生理学报, 1964, 1(1): 9-14.
- [2] 朱庆森, 曹显祖, 骆亦其, 等. 水稻子粒灌浆的生长分析 [J]. 作物学报, 1988, 14(3): 182-193.
- [3] 顾自奋, 朱庆森, 曹显祖, 等. 水稻结实的研究成果—稻穗上强势粒的干重积累过程与空秕粒的分布 [J]. 中国农业科学, 1981, (6): 38-43.
- [4] 王余龙, 徐家宽, 卞悦, 等. 水稻子粒受容活性及其控制 [J]. 江苏农学院学报, 1993, 14(2): 19-24.
- [5] 柯建国, 江海东, 陆建飞, 等. 水稻不同源库类型品种灌浆特点及库源协调关系的研究 [J]. 南京农业大学学报, 1998, 21(3): 15-20.

tivities of 3 kinds of the enzyme from each group were analyzed, among them, the complex functions of the 3 kinds of enzyme activity of I (F- 1, F- 2, F- 3) and III (F- 1, F- 2, F- 3) were very good. Both group I and III were composed of F- 1, F- 2, F- 3 strains, and it was determined as the strains of the yeast for organic fertilizer. Technological process of the yeast for organic fertilizer had been developed.

**Key words** high effective strains; the yeast for organic fertilizer

中国是一个饲养大国,养鸡 30多亿只,养猪近 4亿头,养牛马等大牲畜 1亿多头,每年可生产数亿吨粪便。开发利用好这些有机肥料,既可以清洁环境,又可以加工成生物有机肥料。将加工后生物有机肥料应用于农业生产中,可提高农作物产量,改善农产品品质,生产出优质的农产品,并可增进地力,培肥土壤。通过选择培养高效菌株,并配制高效菌株组合,生产有机肥发酵剂,利用有机肥发酵剂促进有机物料中养分的分解,使有机物料中的养分速效化。通过有机肥发酵剂的研制与开发为生物有机肥的工业化生产提供了重要条件。本文主要针对形成有机肥发酵剂的高效菌株及其组合、有机肥发酵剂的工艺流程进行了探讨。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌种来源

试验于 1994~1996 年进行。菌种来源于佳木斯市四丰山林土样品、合江农科所内腐熟有机肥样品以及日本产的 EM (Effective Microorganisms)。

### 1.2 培养基

马铃薯葡萄糖培养基 (PDA),马铃薯浸出汁 1000mL,葡萄糖 20g,琼脂 20g。乳酸菌培养基,酵母浸膏 7.5g,蛋白胨 7.5g,葡萄糖 10g,磷酸二氢钾

2g,西红柿汁 100mL,吐温 80 0.5mL,蒸馏水 900mL, pH7.0 滤纸培养基 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5g, 酵母浸膏 0.1g, 蒸馏水 1000mL, 滤纸条 1cm×7cm。麦麸、稻壳粉培养基分为 2 种: M<sub>1</sub>- 成份为麦麸: 稻壳粉: 豆粕粉 = 5: 4: 1 加自来水 1 倍, M<sub>2</sub>- 成份为麦麸: 稻壳粉 = 5: 4 加 2% 硫酸铵溶液 1 倍, 并高压灭菌。

### 1.3 酶活力测定

蛋白酶活力测定应用 Folin 试剂显色法, 淀粉酶活力测定应用次亚碘酸法, 纤维素酶活力测定应用 3,5- 二硝基水杨酸显色法。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株分离和定性试验及筛选结果

将样品稀释, 选择适当稀释度 10<sup>-7</sup> - 10<sup>-9</sup>, 分别选用 PDA 培养基和乳酸菌培养基, 进行了平板倾注和涂布接种, 在 30℃ 条件下培养 48h, 其中乳酸菌培养基进行微氧培养, 将长出 12 个菌株分别编号, 接种于装有滤纸培养基 (液体) 10mL 的试管中, 进行了 3 次重复的滤纸崩溃试验。经过 7d 的 30℃ 恒温培养, 试管中的滤纸条发生了不同程度的变化 (见表 1)。

表 1 结果表明 4 菌株最好, 其次是 2、5、3,

表 1 不同菌株对滤纸的崩溃程度

菌株编号	CK	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
滤纸崩溃程度	-	-	++	+	+++	++	+	-	-	-	-	-	-

注: - 没有变化, + 产生崩溃, ++ 多数崩溃, +++ 完全崩溃。

其余均和对照 (未加菌剂) 效果一样, 因此我们选择以上 4 种试验菌株, 并分别编号为 F- 1(4)、F- 2(3)、F- 3(2)、F- 4(5) 供下一步试验使用。

### 2.2 高效菌株的形态特征

F- 1 在 PDA 斜面上呈棉絮状, 24h 后为白色致密菌丝, 48h 后在基质边缘出现绿色、浅绿或黄绿, 光学显微镜下菌丝分枝多为 2 次、3 次分枝, 呈松柏状。孢子形态多为椭圆形、长圆形, 近乎透明, 聚集成堆时为浅绿色, 其菌丝生长状态为木霉属所特有。

F- 2 在 PDA 上呈薄絮状, 一般为白色, 后期产生黄绿色斑点, 为其成熟孢子, 菌丝致密不易分开, 菌丝具隔, 有分枝, 孢子囊为圆形、小, 孢子为球形、较小, 油镜下观察为暗绿色。

F- 3 为酵母菌属, 细胞多为椭圆型, 少数为圆柱形, 其划线培养物为奶油状至粉状, 在 PDA 培养基上菌落平滑, 呈奶白色, 没有假菌丝。

F- 4 在乳酸菌培养基上分离得到的为杆状细菌, 多为单个存在, 个别为短链状, 革兰氏染色阳性, 经高锰酸钾反应测定, 产生乳酸, 故判断为植物乳酸

## 杆菌

将上述 4 个菌株分别在  $M_1$  和  $M_2$  培养基中培

## 2.3 高效菌株的生物化学分析结果

养 72h, 然后测定各自的酶活力 (见表 2)。

表 2 不同菌株的酶活力 (U/G干曲)

菌株编号	$M_1$ 培养基			$M_2$ 培养基		
	纤维素酶	蛋白酶	淀粉酶	纤维素酶	蛋白酶	淀粉酶
F- 1	2000	156	593	2667	28	593
F- 2	1333	199	170	1867	28	263
F- 3	533	51	160	1067	0	237
F- 4	1533	107	195	2100	3	316

表 2 结果表明 F- 1 菌株在  $M_1$  和  $M_2$  两种培养基条件下, 酶活力最高, F- 2 与 F- 4 酶的活力接近, F- 3 酶的活力最低。从培养基看, 在  $M_1$  培养基条件下, 各菌株蛋白酶活力均高于  $M_2$  培养基条件下的蛋白酶活力, 在  $M_2$  培养基条件下各菌株纤维素酶和淀粉酶的活力均高于  $M_1$  培养基条件下的相应酶的活力。

将上述 4 种菌株配制成 6 个组合 (见表 3), 每个组合含有两种菌株, 在  $30^\circ\text{C}$  条件下, 于  $M_1$  和  $M_2$  培养基培养 96h, 然后分别测定各个组合三种酶的活力, 从表 3 中可以看出, I (F- 1  $\times$  F- 4) II (F- 1  $\times$  F- 3) 两个组合的纤维酶素、蛋白酶、淀粉酶的综合性能较好, 因此把组合 I 和 II 中 3 种菌株混合在一起作为有机肥发酵剂菌种。

## 2.4 不同菌株组合生物化学分析结果

表 3 不同菌株组合的活力

菌株组合	$M_1$ 培养基			$M_2$ 培养基		
	纤维素酶	蛋白酶	淀粉酶	纤维素酶	蛋白酶	淀粉酶
I (F- 1 $\times$ F- 4)	1867	266	791	2800	107	1107
II (F- 1 $\times$ F- 3)	2133	107	791	2800	69	1265
III (F- 1 $\times$ F- 2)	1067	85	580	2933	39	843
IV (F- 2 $\times$ F- 4)	1067	0	580	1867	0	738
V (F- 2 $\times$ F- 3)	1067	13	738	2667	3	633
VI (F- 3 $\times$ F- 4)	800	13	683	1600	0	580

## 2.5 有机肥发酵剂的工艺流程

生产有机肥发酵剂的工艺流程如下:

保存菌种 → 试管斜面 → 活化 (1环量, 24h) → 水洗成液体菌种 → 1ml → 24-48h,  $30^\circ\text{C}$  → 克氏瓶斜面 → 水洗成菌液 → 10% 接种量 → 72-96h,  $30^\circ\text{C}$  → 固体培养基 (麦麸、稻壳粉培养基) →  $45^\circ\text{C}$  烘干 → 装袋。

## 3 小结

分离筛选出高效菌株 4 个, 并鉴定到属, 通过菌株间优化组合选出两个组合, 并选其中 3 种菌株作为有机肥发酵剂菌种; 研制出了有机肥发酵剂的工艺流程。

## 参考文献:

- [1] 郑寿亭, 谢朝铮. 微生物酶及其应用 [M]. 济南: 山东人民出版社, 1973, 172-201.
- [2] 杜干有, 关秀清, 范成英, 等. 北京地区水稻根际联合固氮菌的分离鉴定及其固氮酶活性的研究 [J]. 微生物通报, 1988, (6): 247-249.
- [3] 中国微生物菌种保藏管理委员会. 中国菌种目录 [M]. 机械工业出版社, 1995, 249-250.