

文章编号: 1003-8701(2005)05-0051-03

# 大豆根瘤菌吸附剂的选择及样品检测

孙淑荣<sup>1</sup>, 吴海燕<sup>1</sup>, 杨天宇<sup>2</sup>, 刘春光<sup>1</sup>, 范作伟<sup>1</sup>

(1. 吉林省农科院农业环境与资源研究中心, 吉林 公主岭 136100; 2. 吉林省产品质量监督检验院)

**摘要:**通过对快慢生型大豆根瘤菌在补充营养液的草炭、蛭石中直接发酵培养 58 d 后, 每克蛭石快生菌数可维持到  $1.8 \times 10^8$ , 慢生菌数可维持到  $1.3 \times 10^8$ 。每克草炭快生菌数为  $1.7 \times 10^8$ , 慢生菌数为  $1.2 \times 10^8$ , 两种吸附剂保存根瘤菌数都很稳定, 但蛭石要优于草炭。而不同接种量的慢生型大豆根瘤菌在草炭、蛭石中发酵 40 d 后, 菌数即可达到  $10^8/g$ , 表明制备根瘤菌剂时, 没必要接入更多的根瘤菌数, 菌数的增殖与最初的接种量关系不大。对大豆根瘤菌剂经 3 年检测结果, 有效活菌数都能维持在  $1.3 \sim 1.85 \times 10^8/g$ , 杂菌数为 10%, 重金属含量 Cd 为 0.025 2 mg/kg、Pb 为 2.99 mg/kg、Cr 为 69.6 mg/kg、As 为  $<0.007$  mg/kg, 各项指标均符合国家农业行业制定的有关微生物肥料标准。

**关键词:** 根瘤菌; 吸附剂; 菌数; 重金属含量

中图分类号: S939.114

文献标识码: A

目前, 作为根瘤菌的吸附材料很多, 如蛭石、煤炭、草炭、膨润土和高岭土等。我国“七五~八五”期间应用草炭较为普遍, 随着研究的深入, 目前认为蛭石比草炭更具有优越性。为此, 我们对这两种吸附材料进行了对比试验, 同时对菌剂样品进行自行抽样检测和委托检测。

## 1 吸附剂的选择材料与样品检测方法

### 1.1 材料

蛭石除去杂质、过筛; 草炭除去杂质, 用 NaOH 调 pH 为中性; 菌株 G113(快生菌), B<sub>15</sub>+479+35(慢生菌); 营养液为无氮营养液。

### 1.2 测试方法

#### 1.2.1 快慢生型根瘤菌在蛭石与草炭中直接发酵菌数生长情况

将 10 g 蛭石(草炭)与 10 mL 无氮营养液混合, 装入三角瓶中, 塞好棉塞, 压力 15 磅, 120℃灭菌 1 h, 冷却后分别接入快生菌、慢生菌各 15 瓶, 3 次重复, 测定接入时菌数, 室温 25℃, 分别培养 1、2、7、20 和 58 d 后平板记数法测菌数。

#### 1.2.2 不同接种量慢生型根瘤菌在蛭石与草炭中发酵菌数生长情况

将草炭、蛭石各 10 g 装入三角瓶中, 分别加入 10 mL 营养液, 塞好棉塞, 压力 15 磅, 120℃灭菌 1 h, 冷却后各接  $10^4$ 、 $10^6$  和  $10^7$  活细胞/mL 3 个稀释度, 快慢生型根瘤菌各 27 瓶, 3 次重复, 25℃培养 20、25 和 40 d 后平板法测定菌数。

#### 1.2.3 菌剂样品检测

1993~1995 年, 每年都抽取 2 批样品进行检测, 主要检测有效活菌数、杂菌数、水分和 pH 等。有效活菌数测定方法: 采用 1 kg 菌剂从中称取 10 g, 加入带玻璃珠的 100 mL 的无菌水中, 静置 20 min 后在旋转式摇床上充分振荡 30 min, 即成母液的菌悬液。用无菌吸管吸取 5 mL 上述母液的菌悬液加入 45 mL 无菌水中, 混匀成 1:10 稀释的菌悬液, 这样依次稀释  $1:1 \times 10^2$ 、 $1:1 \times 10^3$ 、 $1:1 \times 10^4$  和  $1:1 \times 10^5$  等浓度, 再用 1 mL 无菌吸管分别吸取不同稀释度菌悬液 0.1 mL, 加至直径为 9 cm 平皿的琼脂培养基表

收稿日期: 2005-06-12

作者简介: 孙淑荣(1955-), 女, 吉林省乾安人, 吉林省农科院研究员, 主要从事农业微生物和新型生物肥研究及其产业化。

面,每个样品取  $10^2$ 、 $10^3$  和  $10^4$  稀释度,每一稀释度重复 3 次,同时加无菌水为空白对照,培养 3 h,每个稀释度取 5 个菌落的菌体,涂片染色,显微镜观察识别后计数菌落,根据公式进行计算。

杂菌数、水分和 pH 等的测定采用常规方法,重金属含量委托吉林省农业环保检测站进行检测(方法略)。

## 2 实验结果

### 2.1 快慢生型根瘤菌在蛭石与草炭中发酵结果

最初接入快生菌 G113 为  $3 \times 10^4$ ,慢生菌混为  $9 \times 10^4$ ,结果见表 1。

表 1 快慢生型根瘤菌在草炭、蛭石中发酵结果

发酵天数(d)	菌/g 蛭石		菌/g 草炭	
	快(G113)	慢(混合菌)	快(G113)	慢(混合菌)
1	$2.0 \times 10^6$	$4.00 \times 10^5$	$1.8 \times 10^6$	$5.0 \times 10^6$
2	$1.1 \times 10^7$	$4.30 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$	$4.0 \times 10^6$
7	$1.3 \times 10^8$	$1.20 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8$	$4.6 \times 10^7$
20	$1.6 \times 10^8$	$1.25 \times 10^8$	$1.5 \times 10^8$	$1.0 \times 10^8$
58	$1.8 \times 10^8$	$1.30 \times 10^8$	$1.7 \times 10^8$	$1.2 \times 10^8$

从表 1 看出,根瘤菌在补充营养液的草炭、蛭石中直接发酵,培养 7 d 后蛭石快生菌数可增加到  $1.3 \times 10^8$ /g,慢生菌数可增加到  $1.2 \times 10^8$ /g;草炭快生菌数为  $1.3 \times 10^8$ /g,慢生菌数为  $4.6 \times 10^7$ /g。培养 58 d 后,蛭石快生菌数可增加到  $1.8 \times 10^8$ /g,慢生菌数为  $1.3 \times 10^8$ /g;草炭快生菌数为  $1.7 \times 10^8$ /g,慢生菌数为  $1.2 \times 10^8$ /g。两种吸附剂保存根瘤菌数都很稳定,但蛭石要好于草炭。

### 2.2 不同接种量慢生型根瘤菌接入草炭、蛭石中发酵结果

表 2 不同接种量慢生菌在草炭、蛭石中发酵结果

吸附剂	最初接入数	发酵天数(d)		
		20	25	40
草炭	$1.1 \times 10^4$	$9.0 \times 10^7$	$1.10 \times 10^8$	$1.30 \times 10^8$
	$1.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^8$	$1.20 \times 10^8$	$1.30 \times 10^8$
	$1.1 \times 10^7$	$1.2 \times 10^8$	$1.25 \times 10^8$	$1.30 \times 10^8$
蛭石	$1.1 \times 10^4$	$1.0 \times 10^8$	$1.20 \times 10^8$	$1.35 \times 10^8$
	$1.1 \times 10^6$	$1.2 \times 10^8$	$1.40 \times 10^8$	$1.40 \times 10^8$
	$1.1 \times 10^7$	$1.2 \times 10^8$	$1.40 \times 10^8$	$1.45 \times 10^8$

从表 2 看出,不同接种量的慢生型根瘤菌在草炭、蛭石中发酵 40 d 后,菌数都可维持到  $10^8$ /g,表明制备根瘤菌剂时没必要接入更多的菌种,菌数的增值与最初的接种量关系不大。

### 2.3 菌剂样品检测结果

1993~1995 年,每年出厂的菌剂都随机抽取 2 批样品(1 kg)进行有效活菌数、杂菌数、pH 和水分含量等测定,重金属委托吉林省农业环境保护监测站进行检测,结果详见表 3。

表 3 菌剂样品检测结果

外观	有效活菌数(个/g 蛭石)					
	1993 年		1994 年		1995 年	
	快	慢	快	慢	快	慢
褐色	$1.8 \times 10^8$	$1.33 \times 10^8$	$1.7 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8$	$1.80 \times 10^8$	$1.34 \times 10^8$
颗粒	$1.7 \times 10^8$	$1.35 \times 10^8$	$1.5 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8$	$1.85 \times 10^8$	$1.40 \times 10^8$
重金属(mg/kg)						
Cd	Pb	Cr	As	大肠杆菌(个/g)	蛔虫卵(%)	pH
0.025 2	2.99	69.6	$\leq 0.007$	$2.4 \times 10^3$	未检出	7.2
				水分(%)	杂菌数(%)	
				> 25	10	

从表 3 看出,快生菌的有效活菌数都可维持在  $1.5 \sim 1.85 \times 10^8$ /g。慢生菌的有效活菌数维持在  $1.3 \sim 1.35 \times 10^8$ /g,pH 为 7.2,杂菌数为 10%,水分含量 > 25%,重金属检测,除水分含量超标外,其他各项指标均符合标准。

## 3 小结

通过对快慢生型大豆根瘤菌在补充营养液的草炭、蛭石中直接发酵培养 58 d 后,蛭石菌数可维

持在  $1.8 \times 10^8/g$ ,慢生菌数可维持在  $1.3 \times 10^8/g$ 。草炭快生菌数为  $1.7 \times 10^8/g$ ,慢生菌数为  $1.2 \times 10^8/g$ ,两种吸附剂保存根瘤菌数都很稳定,但蛭石要优于草炭。

同接种量的慢生型根瘤菌在草炭、蛭石中发酵 40 d 后菌数即可达到  $10^8/g$ ,表明制备根瘤菌剂时,没必要接入更多的根瘤菌数,菌数的增殖与最初的接种量关系不大。

菌剂经 3 年检测结果,有效活菌数都能维持在  $1.3 \sim 1.85 \times 10^8/g$ ,杂菌数为 10%,水分含量  $>25\%$ ;重金属检测,除水分含量超标外,其他各项指标均符合国家农业行业制定的有关微生物肥料标准。

参考文献:

[1] 中国科学院南京土壤研究所微生物研究室.土壤微生物研究法[M].北京:科学出版社,1985.  
 [2] 葛 诚.微生物肥料的生产应用及其发展[M].北京:中国农业科技出版社,2000.



(上接第 42 页)

吉林省中等肥力以下的黑土地块占黑土面积的 80%左右,可见本试验结果可以在 80%左右黑土上应用,并且其它土类也可参考应用。

综上所述,在吉林省中等以下肥力的黑土上种植高脂肪大豆应增施中微量元素硫、镁、锌、硼、钼和锰,种植高蛋白大豆应增施微量元素锌、硼和锰,进而提高其产量和品质。

### 3 结 论

施用中微量元素硫、镁、铜、锌、硼、钼和锰对高脂肪、高蛋白大豆产量的影响差异较大。高脂肪大豆施用硫、镁、硼和钼的增产作用比较明显,增产幅度为 9.1%~15.8%;高蛋白大豆施用中微量元素效果不稳定也不显著,但施用镁和铜有增产趋势。

施用中微量元素硫、镁、铜、锌、硼、钼和锰对高脂肪、高蛋白大豆产量构成因素的影响各异。高脂肪大豆单株有效荚数和单株粒数均比对照有所增加,硫、镁、硼和钼增加幅度高于铜、锌和锰;施用硫、镁、硼、钼和锰的单株粒重比对照增加 1.2~2.4 g;所有处理的百粒重变化趋势不明显。高蛋白大豆施用中微量元素单株有效荚数、单株粒数、单株粒重和百粒重均没有明显的变化趋势。

中微量元素硫、镁、铜、锌、硼、钼和锰均能提高高脂肪大豆的脂肪含量,提高幅度为 0.21%~0.35%;锌、硼和锰可增加高蛋白大豆的蛋白质含量,增加幅度为 0.15%~0.44%。

在吉林省中等以下肥力的黑土上种植高脂肪大豆应增施中微量元素硫、镁、锌、硼、钼和锰,种植高蛋白大豆应增施微量元素锌、硼和锰,从而提高其产量和品质。

参考文献:

[1] 陆继龙,等.吉林省黑土某些微量元素环境地球化学特征[J].土壤通报,2002,33(5):365-368.



(上接第 45 页)

### 3 小 结

在本试验条件下,N 和 K 对提高穗长、穗粒数有明显的效果,而 P 没有显著作用,不同肥量级处理对百粒重各有不同程度影响,但尤以施用 N 和 K 对百粒重的提高效果最好。

在本试验条件下不同肥量级处理,对玉米产量的影响以 N、K 肥量级各处理玉米增产效果最明显,而施 P 比不施 P 增产效果不显著,其中在 N 肥量级处理中,以 N5(即 N、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、K<sub>2</sub>O=225、75、90 kg/hm<sup>2</sup>)处理增产效应最好,在 K 肥量级处理中,以 K4(即 N、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、K<sub>2</sub>O=180、75、60 kg/hm<sup>2</sup>)处理增产效应最好。

在本土壤条件下,磷含量较高,氮钾含量不足,但钾离开氮的配合,钾增产效果不明显,施肥应提倡以高氮(N 150~180 kg/hm<sup>2</sup>)、中钾(K<sub>2</sub>O 60 kg/hm<sup>2</sup>)、低磷(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 35 kg/hm<sup>2</sup>)配合为原则。

参考文献:

[1] 宋永林,等.不同肥料对比对夏玉米生物性状及产量影响的定位研究[J].土壤肥料,2001,(1):31-33.  
 [2] 吴 巍,等.玉米高产的化肥效果及养分需求与利用[J].吉林农业科学,2001,26(2):32-35.  
 [3] 吴 巍,等.氮磷钾化肥对玉米的增产效果及经济效益分析[J].农业与技术,1995,(6):9-11.  
 [4] 孙宏德,等.有机无机肥料对黑土肥力和作物产量影响的监测研究[J].植物营养与肥料学报,2002,8(增刊):110-116.