

# 利用几种固体农业废弃物配制生物肥料载体的研究<sup>\*</sup>

段淇斌<sup>1</sup> 姚拓<sup>2</sup> 韩华雯<sup>2</sup> 柴晓虹<sup>2</sup>

(1. 甘肃省农牧厅外资项目管理办公室, 兰州 730030; 2. 甘肃农业大学草业学院, 兰州 730070)

**提 要:** 载体对微生物肥料肥效的发挥至关重要。在泥炭资源日益短缺而农业废弃物大量增加的现实中, 探索农业废弃物作为微生物肥料载体的可行性, 达到减少泥炭用量、节约能源, 实现农业废弃物变废为宝具有重要的意义。本研究以常见的几种固体农业废弃物(菌糠 MR、马铃薯渣 PP、木炭 C、花土 CS 和有机堆肥 OC) 为实验对象, 通过分析比较单一及其组合(配方) 废弃物的吸水率、pH、全氮、全磷、有效磷、全钾、速效钾、生物肥料载体中活菌数量等指标, 综合评价, 筛选出 F3(40% 泥炭 + 40% 木炭 + 20% 花土) 和 F4(20% 泥炭 + 40% 菌糠 + 40% 花土) 可作为理想的生物肥料载体。

**关键词:** 农业废弃物; 生物肥料; 载体; 有效活菌数

**中图分类号:** S141.4

**文献标识码:** A

近年来, 微生物肥料以其成本低、使用安全、持续效果好、增产稳定、非再生能源消耗少、环境友好、无污染及改善土壤环境等优点倍受研究者和政府部门关注。但微生物肥料自身的特殊性直接影响其在农业生产中的推广应用, 尤其是质量控制方面。我国微生物肥料在生产工艺和技术方面存在诸多问题, 如用于微生物肥料的载体(指能够为微生物生长提供特定场所, 对微生物存活有直接影响的一类材料) 质量较差, 菌种品质不符合行业要求等<sup>[1]</sup>。同时, 研究表明, 载体对微生物肥料质量有关键影响<sup>[2]</sup>。目前, 生产者对载体重要性缺乏足够的认识, 对载体选择随意性很大。理想的载体不仅需要来源广泛、供应稳定、易腐熟、成本低, 同时必须具备吸附性能好, 对菌种无毒, 氮、磷、钾及有机质养分适宜, 可为微生物提供良好的生长和繁殖环境<sup>[3]</sup>。

生产中理想的微生物肥料载体是具有大量有序排列的微孔、比表面积大、吸附性强的泥炭。但是, 由于泥炭作为一种天然资源具有短期不可再生性, 长期开采会造成生态环境极大破坏, 并且成本较高。因此, 国内外许多学者对生物肥料载体进行了研究。如 Rebah 等将废水中的污泥选为根瘤菌生长载体, 结果表明脱水污泥及其与泥炭的混合物均可作为根瘤菌剂载体<sup>[4]</sup>。Khavazi 等证实甘蔗渣和麦芽残留物使接种剂中有效菌数量达到最大值, 而珍珠岩和米糠(1:4) 的混合载体有效菌数量最低<sup>[5]</sup>。我国对微生物载体研究起步较晚。刘雯雯等研究表明, 微生物菌种在菌糠(粒径 < 2 mm) 上存活菌数较高<sup>[6]</sup>。李敏清等以畜禽粪便作为菌株的载体, 结果表明 72d 内 C、P 和 TP 的有效活菌数均不及泥炭。各处理中以混合载体 TC2 和 TMI 的效果最佳, 且与泥炭差异不显著, 故可替代泥炭作为芽孢杆菌的载体<sup>[7]</sup>。

本研究旨在通过测定几种农业废弃物(如马铃薯渣、菌糠等) 及其组合的理化性质等, 探索其作为微生物肥料载体的可行性, 以达到减少泥炭用量、节约能源, 实现农业废弃物变废为宝的目的。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 供试载体

将不同农业废弃物(菌糠、马铃薯渣、木炭、花土和堆肥) 及泥炭置于室温风干 3~5d, 粉碎后过 2mm 筛, 在预实验基础上, 按照不同质量比配制成六种混合载体, 即配方 1~6(表 1), 备用。

\* 收稿日期: 2014-12-20; 修回日期: 2015-1-28。

基金项目: IFAD/GEF 甘肃项目“旱地生态保护与恢复”资助。

作者简介: 段淇斌(1963-), 男, 甘肃泾川人, 农业研究员。Email: yaotuo@gsau.edu.cn

表1 混合载体配比  
Table 1 Treatments for test

处理	载体配方	处理	载体配方
配方 1( F1)	20% 泥炭 + 40% 木炭 + 20% 堆肥	配方 4( F4)	20% 泥炭 + 40% 菌糠 + 40% 花土
配方 2( F2)	40% 泥炭 + 60% 马铃薯渣	配方 5( F5)	20% 泥炭 + 40% 马铃薯渣 + 40% 花土
配方 3( F3)	40% 泥炭 + 40% 木炭 + 20% 花土	配方 6( F6)	40% 泥炭 + 40% 菌糠 + 20% 花土

1.1.2 供试微生物菌株

4 株优良微生物菌株(已用于生物肥料生产,表 2)。菌株具有较强固氮、溶磷或分泌 IAA 能力,同时具有生长快、竞争力强等特点,由甘肃农业大学草业学院草地生物多样性实验室提供。

表 2 供试菌株

Table 2 Strains for test

菌株	促生特性	固氮酶活性 (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> nmol/m · h)	溶磷量 (mg/L)	分泌生长素 (μg/mL)
<i>Bacillus</i> sp. Jm170	溶磷	58.97	178.2	4.34
<i>Pseudomonas</i> sp. Jm92	溶磷	75.34	132.60	47.25
<i>Azotobacter</i> sp. Lx191	溶磷	-	200.02	54.36
<i>Azospirillum brasilense</i> G	固氮	180.9	-	-

1.2 方法

1.2.1 载体吸水率测定

无菌条件下,将无菌水与各载体材料充分混匀,每次加入无菌水的量按照一定梯度逐渐增加,使载体材料保持湿润、疏松、不结块。以 100g 载体所含无菌水量为载体吸水率,重复 3 次,取平均值。

1.2.2 载体理化性质分析

常规法测定载体 pH、全氮(半微量凯氏定氮法)、全磷(钼锑抗比色法)、有效磷(高锰酸钾氧化-葡萄糖还原法)、全钾(氢氧化钠熔融-原子吸收分光光度计法)、速效钾(醋酸铵-原子吸收分光光度计法)。

1.2.3 载体结构扫描电镜观察

称取一定质量已灭菌的干燥载体,使用扫描电镜分别对木炭、泥炭、花土、菌糠和马铃薯渣进行表面观察。

1.2.4 生物肥料载体中活菌数量测定

(1) 菌株悬浮液制备。将供试菌株 *Bacillus* sp. Jm170、*Pseudomonas* sp. Jm92、*Azotobacter* sp. Lx191 和 *Azospirillum brasilense* G 分别单独接种于 LB 液体培养基中,160r/min、30℃ 培养 48h~72h,测定并调节各菌液含菌量约 10<sup>8</sup> cfu/mL。将 4 种菌液按体积比 1:1:1:1 混合,即为混合菌悬液,备用。

(2) 微生物肥料制作。以 1.1.1 节中不同农业废弃物及其组合(配方)作为载体制备固体微生物肥料,具体为:分别称取不同载体及其配方的风干样 500g,置于广口瓶内,121℃、25min 间歇灭菌两次,之后在无菌操作台上将其倒入聚乙烯塑料袋中,加入 1.2.4 节中制备的混合菌悬液 80mL,封口。每个袋子上随机扎四个孔,再外套 1 个聚乙烯塑料袋,28℃ 培养 7d~10d 后,常温保存备用。

(3) 微生物活菌数测定。1.2.4 节中制备的微生物肥料在 30d、60d、90d、120d、150d、180d 和 240d,采用稀释平板法测定有效活菌数量。同时,检查是否有霉变和产生异味等。

1.3 数据处理

采用 Excel 2007 与 SPSS 16.0 进行统计分析,Duncan 法多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 不同载体及其组合吸水率

载体吸水能力(用吸水率表示)是表征生物肥料质量的一个重要指标。不同载体及其组合吸水率测定结果(数据略)表明,不同载体及其组合的吸水率差异显著(P<0.05)。单一载体吸水能力大小为:PP>CS>C>MR>OC>P,其中 PP 和 CS 分别达 86.3% 和 82.2%,对照(P)吸水率最低(42.0%)。除对照(P)与 OC、MR 与 C 吸水率之间差异不显著外(P>0.05),其余各单一载体间载体吸水率差异显著(P<0.05)。不同载体组合之间吸水率为:F1>F6>F2>F3>F5>F4。载体组合中除 F2 与 F3 和 F6 之间差异不显著(P>0.05),其余各载体组合之间差异显著(P<0.05)。由于微生物生长需要维持适宜的湿度,过高的吸水率容易导致发霉,且吸水能力越强吸附有益微生物的位点就会减少<sup>[6]</sup>。因此,从载体吸水率角度看,较为理想的载体为 MR、C、F1、F2、F3、F5 和 F6。

2.2 不同载体及其组合理化性质

2.2.1 不同载体及其组合 pH

pH 是影响有益菌在载体中存活的重要因子,生物肥料多选用具有溶磷、固氮、分泌生长素及抑制病原菌等特性的细菌,其最适生长和繁殖 pH 在 7.0~7.5。6 种单一载体材料及其组合 pH 测定结果(图 1)。

图 1 表明,单一载体 pH 较载体组合变化幅度明显。单一载体中 PP 和 P 呈弱酸性,其余各处理 pH 大于 7.6,不利于微生物生长;载体组合中 F1、F3 及 F6 pH 在 7.13~7.24,为有益菌生长的较佳酸碱度,而其余组合酸碱度或高或低,均会对菌株生长繁殖有一定抑制作用。因此,从 pH 角度看,F1、F3 及 F6 是菌株存活的较佳载体组合。

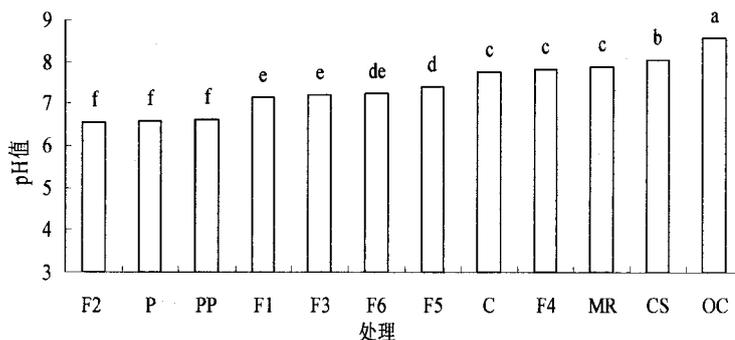


图 1 不同载体及其组合 pH  
Figure 1 pH of different carriers and their formulations

### 2.2.2 不同载体及其组合营养成分

不同载体及其组合营养成分(表 3)。

单一载体,全氮含量 CS > MR > OC > PP > P > C,除 PP 与对照(P)差异不显著外,其余各处理差异均达到显著水平(P < 0.05);全磷含量 MR 最高,OC 和 CS 次之。除 C 和 PP 外,全磷含量较对照 P 提高 1.1~1.3 倍;全钾含量 OC 最高,MR 次之,除 C 不及对照 P,其余显著高于对照(P < 0.05);有效磷含量:OC > CS > MR > PP > C > P,对照 P 有效磷含量为 18.4mg/kg,而 OC 高达 605.2mg/kg,P 与 C、PP 与 MR 差异不显著,其余处理差异显著(P < 0.05);有效钾含量均不及对照 P,其中 C 最低,PP 次之。载体组合,全氮含量:F4 > F5 > F6 > F2 > F3 > F1,F1、F2 和 F3 全氮含量均低于对照 P,组合内除 F5 与 F6 差异不显著,其余各处理差异均达到显著水平;全磷含量 F4 最高,F5 次之,且 F3~F6 全磷明显优于对照 P,F1 与 F2 差异不显著,其余处理差异显著;全钾含量 F1 最低,F3 次之,组合中 F6 与 F4 和 F5 差异不显著;有效磷含量是对照 P 的 0.6~6.8 倍,而有效钾含量均不及对照(P)。F4 有效钾和有效磷含量最高,F5 次之。从载体综合营养看,OC、MR、CS、P、F4、F5 和 F6 较为理想。

表 3 不同载体及其组合营养成分分析

Table 3 Nutritional composition analysis of different carriers and their formulations

载体	全氮 (g/kg)	全磷 (g/kg)	全钾 (g/kg)	有效磷 (mg/kg)	有效钾 (g/kg)
OC	9.05d	1.47b	34.39a	605.2a	8.52b
MR	11.14b	1.53b	31.07b	199.75c	8.34b
CS	12.10a	1.38bc	28.94c	330.55b	8.97a
C	1.48i	0.37g	15.55h	28.69f	2.72e
PP	6.87f	0.61ef	27.13d	180.31c	6.06cd
P	6.80f	0.67e	24.12e	18.4f	9.07a
F1	3.57h	0.48fg	19.30g	28.72f	6.51c
F2	6.70f	0.57ef	25.44e	70.91e	5.26d
F3	5.71g	0.94d	22.43f	50.71ef	6.50c
F4	9.94c	1.74a	29.84bc	143.72d	8.77ab
F5	8.07e	1.50b	27.16d	117.13d	8.76ab
F6	7.78e	1.29c	28.32cd	79.54e	8.71ab

同一列各处理相同字母表示差异不显著,小写字母表示显著水平(P < 0.05),下同。

### 2.3 载体的表面结构

电镜扫描结果表明,不同载体材料表面结构差异较大。菌糠表面块状颗粒大且有很多丝状结构;泥炭表面具有清晰的立体网状结构。木炭的表面结构显示为管状结构,且排列有序,具有较强的吸附能力和持水能力;花土为类似海绵状的结构,表面微孔数量丰富,孔洞畅通,层次分明,可以提供大量吸附位点和较大吸附面积;马铃薯渣为褶皱状结构,比表面积大,吸水能力强。

### 2.4 不同载体微生物活菌数量变化

有效活菌数是微生物肥料质量好坏的关键指标。不同载体微生物肥料有效活菌数测定结果表明,随着载体生物肥料贮存时间延长,各单一载体其有效活菌数总体呈下降趋势(图 2a),从制作到贮存 30d,活菌数量在增加并达最高值,之后开始下降,30~90d 下降较快,90~150d 下降较慢,之后下降速度增加。除 PP 外,180d 时,各载体生物肥料有效活菌数均大于 10<sup>8</sup>cfu/g,且均未出现污染情况,符合 NY 227-94 行业标准。各载体组合配方中,有效活菌数变化与单一载体趋势一致(图 2b),但有效活菌数显著高于单一载体和对照(P)。贮存 30d 后,其数量下降较单一载体慢。贮存 180d 活菌数可达 10<sup>9</sup>cfu/g,显著高于单一载体。从微生物有效活菌数看,MR、F1、F2 和 F3 更为理想。

### 3 讨论

#### 3.1 载体吸水率与其表面结构的关系

载体吸水能力作为反映菌肥质量的重要指标,吸水能力强,载体能够在较长时间内为附着在其上的微生物提供较为湿润的生存环境,意味着菌肥保存期延长<sup>[6]</sup>。本研究表明,载体中CS和PP吸水率最高(>80%),这主要与其表面结构密切相关,前者扫描电镜显示为海绵状结构,可以提供大量的吸附位点和较大的吸附面积,而后者海带状结构的比表面积极大,有利于吸收足够的水分。研究证实,单一载体吸水率之间的差异主要载体自身的材质有关,如泥炭(P)密度大,孔隙度小,故吸水量小,而马铃薯渣(PP)和花土(CS)质轻、密度小、粒间孔隙度大,故有较强吸附能力。但由于微生物生长需要维持适宜的湿度,过高的吸水率容易导致发霉,且吸水能力越强吸附有益微生物的位点就会减少。本研究剔除吸水率过高和过低的载体或组合,较为理想载体为MR、C、F1、F2、F3、F5和F6。

#### 3.2 不同载体材料的理化性质

Rebah等<sup>[4]</sup>报道载体材料应当具有较高有机质含量、适宜N含量、pH近中性、良好持水能力以确保微生物在载体正常存活。本研究表明,室内风干5d各载体材料含水率低于10%,基本满足制作微生物肥料所需载体含水量标准<sup>[8]</sup>。单一载体泥炭和马铃薯渣的pH近中性,其余处理偏碱性,而载体组合中酸碱性较为适宜于有益菌株的定殖。不同载体材料的营养成分分析显示单一载体材料的全效养分含量差异较大,这是由载体本身的性质决定,如花土、菌糠和有机堆肥养分含量较高,说明其具备作为微生物肥料载体的潜力,而木炭养分含量较低,但其吸附能力较强。因此,筛选微生物肥料载体应当综合考虑各指标,通过载体的优化组合避免单一材料缺陷,使之更适合微生物生存、定殖和繁殖。

#### 3.3 不同载体对菌肥活菌数的影响

持水能力、pH、廉价以及环保等是微生物肥料载体筛选的基本条件,微生物肥料活菌数是衡量载体的主要指标。本研究结果表明,各载体微生物肥料活菌数因贮存时间延长而下降,下降幅度因载体各异,载体组合中活菌数显著高于单一载体。除了以马铃薯渣为载体的外,其余载体微生物肥料保存180d活菌数均满足菌肥行业NY 227-94行业标准。这与马铃薯渣自身特性密切相关,研究证实其自带菌共15类33种菌种,其中28种细菌、4种霉菌和1种酵母菌<sup>[9]</sup>,因而以马铃薯渣作为微生物肥料载体的生产对灭菌设备要求更为苛刻。载体组合F效果最佳,显著优于其单一载体活菌数,原因可能是该载体组合能够为菌株提供较广谱的生态环境,抑或载体组合养分分配比适宜菌株繁殖,如适宜碳氮比和中性pH有利于微生物生长<sup>[10,11]</sup>。由于配方4可有效利用农业废弃物(菌糠),成本较低,具有较大市场潜力。

目前,世界各国对于微生物肥料的标准不尽相同,但至少维持活菌数 $10^7 \sim 10^9 \text{ cell/g}$ <sup>[12]</sup>。研究表明,蔗渣等为载体的菌肥中活菌数大约 $10^7 \sim 10^8 \text{ cell/g}$ <sup>[13]</sup>,而在惰性材料(蛭石等)微生物存活率显著优于植物材料<sup>[14]</sup>。除了载体类型对微生物肥料活菌数影响显著外,灭菌方式、pH以及保存温度也是影响活菌数的关键因素<sup>[5]</sup>。Bazilah等<sup>[15]</sup>报道不同载体配方的微生物肥料保存在10℃或20℃可延长贮存期。李敏清等<sup>[7]</sup>以堆肥作为功能微生物载体的研究中表明载体TC2(50%草炭+50%鸡粪)和TM1(25%草炭+75%

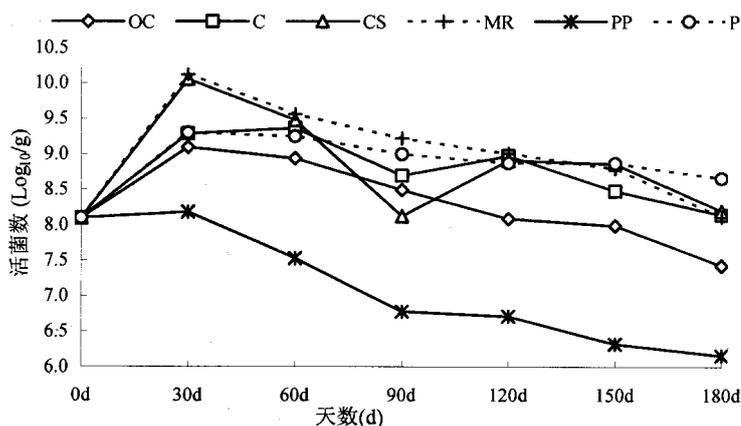


图2a 不同载体菌肥活菌数比较

Figure 2a Comparison of viable bacteria for different carrier of inoculants

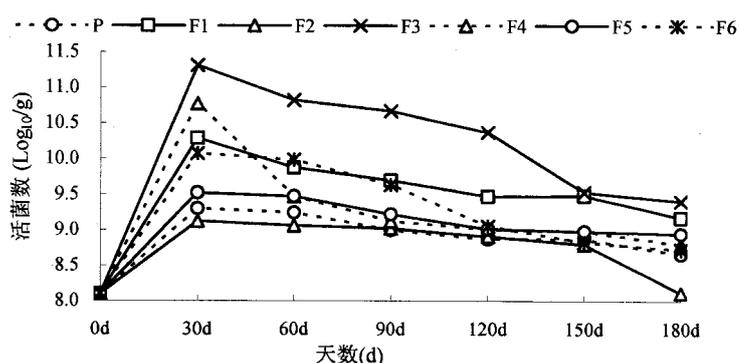


图2b 不同载体组合菌肥活菌数比较

Figure 2b Comparison of viable bacteria for different carrier combination of inoculants

1:1 鸡粪猪粪) 的最优化影响因子为含水量 30%、吸附温度 30℃、菌液接种浓度为  $10^8$  cfu/mL, 而本试研究将在后续的研究中对载体配方进行逐一优化, 使之更高效。

## 4 结论

综合载体吸水率、pH、营养成分、生物肥料载体中活菌数量及来源和成本等, 载体组合 F3 (40% 泥炭 + 40% 木炭 + 20% 花土) 和 F4 (20% 泥炭 + 40% 菌糠 + 40% 花土) 可作为理想的生物肥料的载体。农业废弃物通过一定的处理做生物肥料载体是可行的。

## 参考文献

- [1] 刘鹏, 刘训理. 中国微生物肥料的研究现状及前景展望[J]. 农学学报, 2013, 3(3): 26-31.
- [2] Daza A, Santamaría C. Perlite as a carrier for bacterial inoculants [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32: 567-572.
- [3] Albareda M, Camacho M, et al. Alternatives to peat as a carrier for rhizobia inoculants: Solid and liquid formulations [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40: 2771-2779.
- [4] Rebah F B, Tyagi R D, Revost D P. Wastewater sludge as a substrate for growth and carrier for rhizobia: the effect of storage conditions on survival of *Sinorhizobium meliloti* [J]. Bioresource Technology, 2007, 83: 145-151.
- [5] Khavazi K, Rejali F, Seguin P, et al. Effects of carrier, sterilisation method, and incubation on survival of *Bradyrhizobium japonicum* in soybean (*Glycine max* L.) inoculants [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 41: 780-784.
- [6] 刘雯雯, 姚拓, 孙丽娜, 等. 菌糠作为微生物肥料载体的研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 787-791.
- [7] 李敏清, 袁英英, 区伟佳, 等. 畜禽粪便堆肥作为功能微生物载体的研究[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(5): 1007-1013.
- [8] 张志红, 李华兴, 冯宏, 等. 堆肥作为微生物菌剂载体的研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(7): 1382-1387.
- [9] 王卓, 顾正彪, 洪雁. 马铃薯渣的开发与利用[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(2): 134-136.
- [10] 李杰, 郁继华, 冯致, 等. 不同微生物菌剂对牛粪好氧堆肥的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2014, 28(2): 109-113.
- [11] 萨如拉, 高聚林, 于晓芳, 胡树平. 玉米秸秆深翻还田对土壤有益微生物和土壤酶活性的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2014, 28(7): 138-143.
- [12] Lupwayi N Z, Olsen P E, Sande E S, et al. Inoculants quality and its evaluation [J]. Field Crops Research, 2000, 65: 259-270.
- [13] Pugashetti B K, Gopalgowda H S, Patil R B. Cellulose powder as legume inoculant base [J]. Current Science, 1971, 40: 494-495.
- [14] Denardin N D, Freire J R. Assessment of polymers for the formulation of legume inoculants [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2000, 16: 215-217.
- [15] Bazilah A B I, Sariah M, Zainal M A, et al. Effect of carrier and temperature on the viability of *Burkholderia* sp. (UPMB3) and *Pseudomonas* sp. (UPMP3) during storage [J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2011, 13(2): 198-202.

## Formulation of biofertilizer carrier using solid agricultural residues

DUAN Qibin<sup>1</sup>, YAO Tuo<sup>2</sup>, HAN Huawen<sup>2</sup>, CHAI Xiaohong<sup>2</sup>

(1. Gansu Provincial Department of Agriculture and Animal Husbandry, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2. Pratacultural College of Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** Carrier plays a vital role in the biofertilizer quality. So in the factual situations that the peat resource has got shortened gradually, while agricultural residues are increasing, it is significant to explore feasibility of taking solid agricultural residues as biofertilizer carriers, and to achieve energy conservation by reducing the dosage of peat, and furthermore to bring about recycling agricultural residues. In this research, we selected different kinds of solid agricultural residues, such as mushroom residue (MR), potato pulp (PP), charcoal (C), peat (P), cultivated soil (CS) and organic compost (OC), and assessed comprehensively by analyzing and comparing the properties of single and combined formula through some biochemical indicators e. g. water absorption rate, pH value, total nitrogen, total phosphorus, available phosphorus, total potassium, available potassium, and effective bacteria number of biofertilizer carriers. Eventually, we acquired two ideal formulations of carrier, which was F3 (40% C + 40% P + 20% CS), and F4 (20% P + 40% MR + 40% CS).

**Key words:** agricultural residues; biofertilizer; carrier; effective bacteria number