

菌糠作为微生物肥料载体的研究

刘雯雯, 姚拓, 孙丽娜, 苑力辉

(甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:以不同粒径菌糠为载体,接种 1 株根瘤菌(分离自苜蓿根际)和 3 株溶磷菌(2 株分离自苜蓿根际、1 株分离自小麦根际)制作微生物肥料。以泥炭为对照,通过测定载体吸水率、不同保存期有效活菌数及保存 40 d 时的种子发芽指数,探讨了未经堆肥腐熟处理的菌糠直接作为微生物肥料载体的可行性。结果表明,第 75 d 时,菌种 S7 在菌糠 1 和菌糠 2 上的数量分别高于对照 CK 5.1×10^2 和 1.6×10^3 倍;P170 在菌糠 1 和菌糠 2 上的数量分别高于 CK 1.9×10^4 和 4.2×10^4 倍;P191 在菌糠 1 和菌糠 2 上的数量分别高于 CK 9.3×10^2 和 4.6×10^3 倍;菌种 P92 在菌糠 1 和菌糠 2 上的数量分别高于 CK 7.7×10^2 和 1.8×10^4 倍;在第 135 d 时,菌糠菌肥的有效活菌数仍在 10^8 个·g⁻¹ 以上,高于泥炭对照;不同菌种对菌糠粒径要求不同;用浸提液培养苜蓿种子 60 h 之后,各处理种子发芽指数均高于 80%,初步认为该肥料浸提液对植物无毒性。未经堆肥腐熟处理的菌糠作为微生物肥料的载体是可行的。

关键词:微生物肥料;载体;菌糠;有效活菌数;发芽指数;植物毒性

中图分类号:X712 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2008)02-0787-05

The Feasibility of Spent Mushroom Substrate as a Kind of Microbial Fertilizer Carrier

LIU Wen-wen, YAO Tuo, SUN Li-na, YUAN Li-hui

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Experiments were conducted to detect whether spent mushroom substrate (SMS, the residual substrate after edible fungi cultivation) could be carrier for microbial fertilizer by inoculating four plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) strains on it. Water absorbing capability, PGPR numbers in different stages after inoculating and alfalfa seeds germination index were measured. The results showed that the 6 mm SMS had the largest capability of water absorbing, which meant it was a better survival environment to effective strains. The numbers of those strains on SMS were obviously larger than on peat and rhizobia S7, phosphate-solubilizing bacteria 170, phosphate-solubilizing bacteria 191, phosphate-solubilizing bacteria 92 on SMS increased by $5.1 \times 10^2 \sim 1.6 \times 10^3$, $1.9 \times 10^4 \sim 4.2 \times 10^4$, $9.3 \times 10^2 \sim 4.6 \times 10^3$, $7.7 \times 10^2 \sim 1.8 \times 10^4$ times than their numbers on peat(control), respectively. The phytotoxicity of SMS was measured with germination index (GI) of alfalfa seeds that were cultured in the solution of microbial fertilizer made by SMS. The results indicated that all of the GIs were above 80% and the solution could be beneficial to plant seed development but no phytotoxicity. Therefore, SMS would be an ideal carrier for microbial fertilizer.

Keywords: microbial fertilizer; carrier; spent mushroom substrate (SMS); germination index; phytotoxicity

随着世界经济的飞速发展,石油等矿物性燃料的消耗量与日俱增,由此引发的能源危机极大地冲击着化肥工业,并且化肥的大量生产和使用危害生态环境平衡和人类健康,人类不得不寻找有效的化学肥料替代品。而微生物肥料具有肥效高、无毒、可再生的特

点,且不以消耗大量能源和牺牲生态环境为代价,与现代农业所倡导的生态农业、有机农业相吻合,无疑是化学肥料较好的代替品。

目前市场上的微生物肥料载体有蛭石、珍珠岩、泥炭及一些腐熟的有机肥等,其中以泥炭最为普遍。而泥炭是在特殊的沼泽湿地环境下,植物残体经过复杂的极其缓慢的生化作用,逐渐累积并泥炭化而形成的。其作为一种天然矿产资源具有短期不可再生性,在我国主要分布于若尔盖高原、云贵高原、长白山和大小兴安岭山脉等生态功能极为重要的水源涵养地^[1]。长期以来,泥炭资源开采为各地政府带来可观经济效益的同时,也造成了生态环境的极大破坏,并且

收稿日期:2007-05-25

基金项目:甘肃省中青基金(3YS061-A25-021);甘肃省科技攻关项目(2GS035-A41-001-04);甘肃农业大学创新基金(GAU-CX0501);草业科学国家级重点学科学术骨干科研(Cy-GG-2006-02)

作者简介:刘雯雯(1983—),女,硕士研究生,研究方向为草地应用微生物及生物肥料。

联系人:姚拓 E-mail:gsyaotuo@hotmail.com

对于微生物肥料的商业化生产来说成本较高。能否找到一种更为环保经济的载体,已成为微生物肥料生产中的突出问题之一。

菌糠是食用菌生产后的剩余废料,由于我国食用菌总产量和总出口量已跃居世界第一,每年产生的菌糠至少有 400 万 t^[2]。处理菌糠的传统方法是丢弃或燃烧,不但造成资源浪费,同时导致霉菌和害虫滋生,空气中有害孢子和害虫的数量增加,从而造成环境污染^[2]。因此如何有效利用食用菌菌糠,将其变废为宝,已成为亟待解决的问题。本研究以减少环境污染、节约资源和降低生产成本等为出发点,对比分析菌糠替代泥炭作为微生物肥料载体的可行性,以期菌糠废物再利用及节约泥炭资源另辟蹊径。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

菌糠:采收完平菇后的新鲜菌糠,主要成分为棉籽壳及菌丝,其理化性状为:pH 值 6.56、有机质 44.5%、全 N 1.58%、C/N 28:1。粉碎至不同粒径,分别为:菌糠 1(粒径<2 mm)和菌糠 2(粒径<6 mm)。

菌株:3 株溶磷菌 P191(分离自小麦根际)、P92 和 P170(分离自苜蓿根际)和 1 株根瘤菌 S7(分离自苜蓿根际)。以上菌株由甘肃农业大学草地微生物多样性实验室提供。

1.2 试验方法

菌糠处理:将采收平菇后的新鲜菌糠自然风干,粉碎过筛。121 °C 灭菌 2 h(重复间歇灭菌,每次 1 h)。

试验设计:设置 3 个处理:泥炭、菌糠 1(粒径<2 mm)、菌糠 2(粒径<6 mm)。每个处理分别接种 S7、P170、P191 和 P92 菌种。

载体吸水率测定^[3]:在无菌条件下将菌液与各载体充分混匀,逐次加入菌液,每次 5 mL。直至载体湿润,并保持疏松不结块。以 100 g 载体(保持湿润疏松状态)所含的最大菌液量为载体吸水率。

菌肥制作及有效活菌数测定^[4,5],菌种纯化之后进行扩大培养,固体和液体培养基均为 LB 培养基^[4]。扩大培养 24 h 后,在波长 660 nm 下测定 OD 值(OD

值>0.5 即活菌数>10⁸),并用无菌水调节使各处理 OD 值相同。每处理载体 50 g,无菌水 70 mL,接入菌种培养液 5 mL,混匀、封口。自封袋表面用灭菌针均匀扎若干个通气孔,再套一层自封袋同样扎若干个通气孔。将其在 28 °C 下培养 7 d 之后置于常温干燥阴凉处。然后每隔 15~20 d 用平板计数法进行活菌数测定,共测定 135 d。

发芽指数(GI Germination Index)测定:将保存 40 d 的菌肥与蒸馏水按照 1:10 的比例混合,200 r·min⁻¹ 振荡浸提 1 h,静置澄清后,将浸提液稀释制成不同体积分数(浸提液体积稀释后体积),分别为 100%、50%、25%和 10%。将破除硬实之后的苜蓿种子置于 150 mm 培养皿中,每皿 25 粒,加入不同浓度的浸提液 8 mL。以蒸馏水为对照,每皿 3 个重复置于 20 °C 暗培养箱中,进行发芽试验。分别在第 36 h、60 h 测定发芽率及根长。GI(%)=(处理的种子发芽率×种子根长)/(对照的种子发芽率×种子根长)×100^[6]。

2 结果与分析

2.1 不同载体吸水率

载体的吸水能力是反映菌肥质量的一个重要指标^[3],吸水能力强的载体能够在较长时间段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。

从表 1 可以看出,3 种载体的吸水能力大小依次为:菌糠 2>菌糠 1>泥炭。由于泥炭密度大,孔隙度小,故吸水量小。菌糠的主要成分为棉籽壳及真菌菌丝,质轻,密度小,粒间孔隙度大,故有较强吸附能力。不同粒径菌糠吸附率不同,大粒径菌糠吸水能力高于小粒径。

2.2 有效活菌数的变化

在考虑吸水能力的同时还应考虑菌种的释放率,即菌剂真正能够释放出来的活菌数。微生物肥料中有效活菌的数量是微生物肥料质量好坏的关键指标。据中华人民共和国农业行业标准:微生物肥料 NY 227-94 规定,固体菌剂中有效活菌数不得少于 1×10⁸~3×10⁸ 个·g⁻¹^[7]。本研究对菌糠作为微生物肥料载体有效

表 1 载体吸水率

Table 1 The water absorbing capability of different carriers

载体	载体吸水率/%			
	重复 1	重复 2	重复 3	平均数
泥炭	35	40	35	36.7
菌糠 1(粒径<2 mm)	70	70	75	71.6
菌糠 2(粒径<6 mm)	80	80	80	80.0

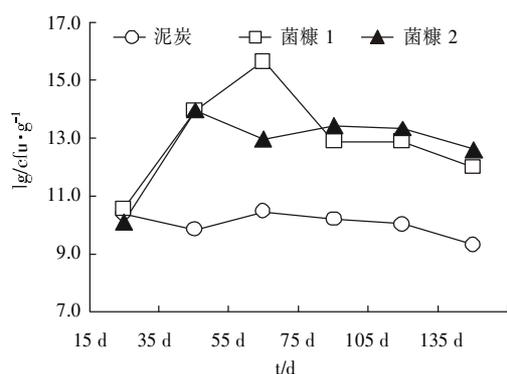


图1 S7在不同载体上的数量变化

Figure 1 The number of strain S7 in different carriers

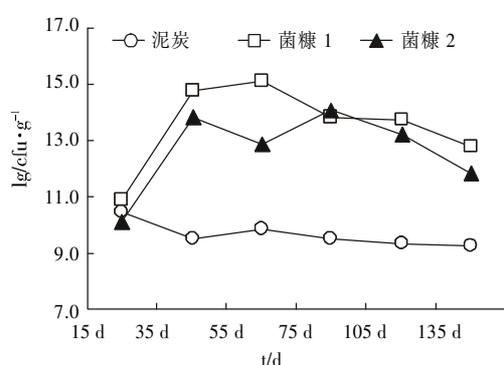


图2 P170在不同载体上的数量变化

Figure 2 The number of strain P170 in different carriers

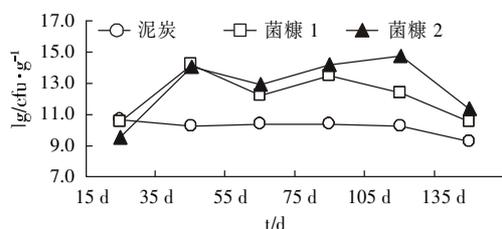


图3 P191在不同载体上的数量变化

Figure 3 The number of strain P191 in different carriers

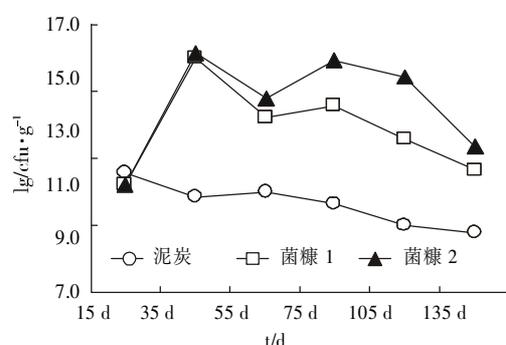


图4 P92在不同载体上的数量变化

Figure 4 The number of strain P92 in different carriers

活菌的数量测定结果见图1~4和表2。

对不同时期菌肥中有效活菌数量测定可以看出,各菌种在不同载体上的数量发生了较为明显的变化,总体而言,各载体至少在135 d保存期内都能够使有效活菌数保持在 10^9 个 \cdot g $^{-1}$ 以上,并且各菌种在菌糠上的生长均优于泥炭。对菌肥保存第75 d和135 d的有效活菌数进行分析(表2)发现,以菌糠作为载体的菌剂与泥炭载体差异显著。例如,第75 d时菌种S7在菌糠1和菌糠2上的数量分别高于CK 5.1×10^2 和 1.6×10^3 倍;P170在菌糠1和菌糠2上的数量分别高于CK 1.9×10^4 和 4.2×10^4 倍;P191在菌糠1和菌糠2上的数量分别高于CK 9.3×10^2 和 4.6×10^3 倍;菌种P92在菌糠1和菌糠2上的数量分别高于CK 7.7×10^2 和 1.8×10^4 倍。

此外,不同菌种在不同时期对载体孔隙度要求也不同,P170在菌糠1(粒径<2 mm)上存活菌数较高,而其他3个菌种在菌糠2(粒径<6 mm)上存活能力较强。可见,P170对载体的透氧性能要求较高。

研究发现(图1~图4),4个菌种在泥炭上的生长较为平稳,而在菌糠上均有一至两个生长高峰,这是因为:微生物与有机物料的相互作用是一种由微生物起主导作用的氧化还原反应,其中有机物为电子供体, O_2 为电子受体,生成的 NH_4^+ 为微生物细胞合成的氮源,当作为电子供体的有机物料中易降解有机质含量比较丰富,氧气等其他条件适宜的情况下,微生物大量繁殖,从而造成这种数量突然剧烈增加的现象,之后难降解有机质开始缓慢降解,微生物数量保持在一个较稳定的水平^[8];而泥炭易降解有机质不如菌糠丰富,因而营养物质的释放比较缓慢。

微生物肥料作为一种含活体微生物制剂,其产品的保存期受到很多因素的影响,诸如产品的发酵工艺,载体的性质与灭菌程度、方式、产品的保存条件等,其中载体的性质起关键作用。菌糠的有机物含量在40%以上,C/N为25~30,呈微酸性,这与微生物生长的适宜条件耦合。与泥炭载体相比较来说,菌糠具有有机物含量高,能够为菌种生长提供更多有机质的特点。但是在为目标菌种提供良好生存条件的同时,如果保存不当也易为杂菌污染提供机会。因此菌糠菌剂的保存期不宜过长,建议4~5个月。

2.3 植物毒性

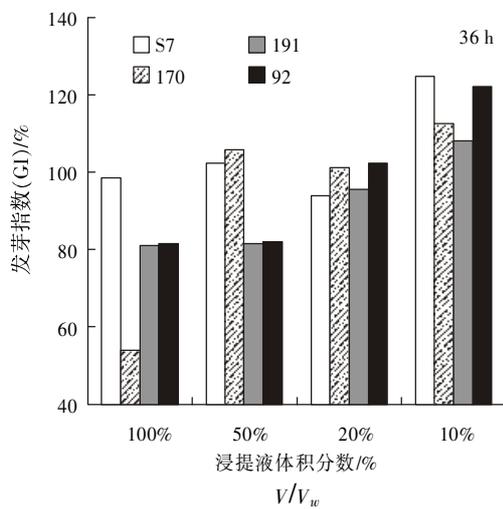
为了解以菌糠为载体的菌肥浸提液对种子发芽的影响,本研究用保存至40 d的菌肥进行了发芽指数测定,结果见图5。

表2 菌种在载体上的数量变化

Table 2 The number of strains in different carriers at different stages

菌种	处理	有效菌数量/cfu · g ⁻¹	
		75 d	135 d
S7	泥炭 CK	1.7×10 ¹⁰ cB	2.2×10 ⁹ cA
	菌糠 1	8.6×10 ¹² bAB	9.5×10 ¹¹ bA
	菌糠 2	2.8×10 ¹³ aA	4.0×10 ¹² aA
P170	泥炭 CK	3.1×10 ⁹ cB	1.7×10 ⁹ cC
	菌糠 1	5.9×10 ¹³ bA	5.6×10 ¹² aA
	菌糠 2	1.3×10 ¹⁴ aA	6.8×10 ¹¹ bB
P191	泥炭 CK	2.8×10 ¹⁰ cC	1.8×10 ⁹ cB
	菌糠 1	2.6×10 ¹³ bB	3.2×10 ¹⁰ bB
	菌糠 2	1.3×10 ¹⁴ aA	2.7×10 ¹¹ aA
P92	泥炭 CK	4.4×10 ⁹ cB	5.8×10 ⁹ cB
	菌糠 1	3.4×10 ¹² bB	4.2×10 ¹⁰ bB
	菌糠 2	8.1×10 ¹³ aA	2.3×10 ¹¹ aA

注:各处理间字母相同表示差异不显著,大写字母表示显著水平为0.01,小写字母表示显著水平为0.05。



V: 为浸提液体积;Vw: 为稀释后总体积,下同。

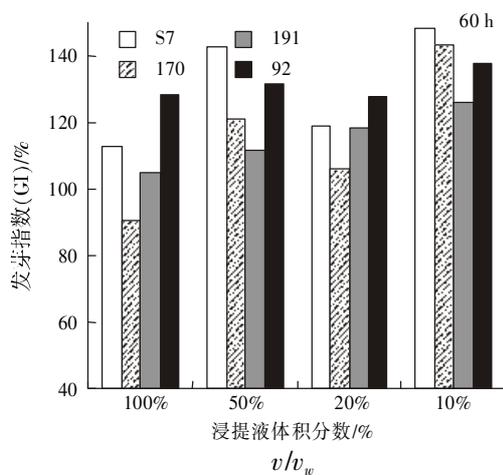


图5 不同浓度菌肥浸提液对苜蓿种子发芽指数(%)的影响

Figure 5 Germination index (%) of alfalfa seed after culturing 36 h and 60 h treated with microbial fertilizer solution

结果表明,处理 36 h 后,除了 P170 菌肥 100% 浸提液种子发芽指数在 50%~80% 之间,其余均高于 80%;60 h 之后,仍然是 170 菌肥 100% 浸提液的发芽指数在 80%~100% 之间,其余均高于 100%;甚至大部分处理远高于清水对照(发芽指数为 100%),表明在培养后期,浸提液对苜蓿种子生长有一定的促进作用。此外,处理 60 h 后,苜蓿种子发芽指数比在 36 h 培养时明显提高。这是因为在与菌糠的相互作用过程中,微生物利用载体中丰富的碳源和氮源进行生长繁殖,将有机氮转变为 NH_4^+-N , NH_4^+-N 的积累过多会对植物生长产生抑制作用^[11];而随着培养时间的延长, NH_4^+-N 转变为 NH_3 散逸到空气中,这种抑制作用不再存在。发芽指数随着浸提液浓度的降低而升高,可能是由于高浓度溶液中盐浓度较高的缘故。但是菌肥施量一般为 $0.5\sim 1.5 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$, 氨及可溶性盐的积累量相对于施用面积来说是微不足道的,因而在实际生产中不会对种子发芽产生影响。并且有研究证明,食用菌菌丝在生长过程中能够产生一些有利于植物生长的激素。日本利用食用菌废料提取植物激素,使大豆茎叶茁壮,抗病力强,增产 2.6 倍^[12]。

将秸秆、畜禽粪便、酒厂糖厂废渣、生活垃圾等进行处理之后,作为肥料的报道非常常见。有研究表明,不完全腐熟的有机物料对植物生长产生不同程度的抑制作用。本试验采用的原料为未经腐熟处理的平菇菌糠,这种材料是否会与供试菌种相互作用产生一些不利于植物生长的物质,对于这一问题,需要试验证明。种子发芽指数是评价植物毒性的有效指标,通过对种子一定时间内的发芽率和种子根长的测定,可以有效地判定肥料浸提液是否会对植物生长产生毒害

作用。Zucconi 认为,发芽指数高于 50%就可被植物接受,即基本没有毒性^[9];钱学玲等认为:发芽指数达到 80%以上时,有机物料对植物无毒性^[10]。由此可认为该肥料浸提液对植物无毒性。

3 结论与讨论

本研究结果显示菌糠是比较好的可代替泥炭的微生物肥料载体。它对 4 个试验菌种不仅有较好的吸附能力和释放能力,而且具有很好的扩大培养能力。但是由于各种微生物的特性不同,其耗氧能力也各不相同,从而对载体的粒径有不同的要求。P170 在菌糠 1(粒径<2 mm)上的存活菌数较高,而其他菌种在菌糠 2(粒径<6 mm)上存活能力较强。

微生物在载体中的生长是一个利用载体碳源和氮源的动态生长消亡过程,在储存过程中被污染是不可避免的,杂菌与目标菌种的相互竞争使得任何菌肥的保存期都是有限的。如果超过保存期,目标菌种数量减少到一定范围,菌肥就会失去原有效力。菌糠的碳氮比在 25~30 之间,显微酸性,在适宜目标菌种生长的同时也更容易被其他杂菌污染,故建议以菌糠为载体的菌肥保存期在 4 个月以内。

实验中各处理的浸提液在培养苜蓿种子 60 h 之后,都有 80%以上的发芽指数,表明已达到无毒标准,并且在种子生长初期显现不同程度的促生作用,但后期肥效还需要大田或盆栽试验的进一步验证。已有一些菌糠肥料方面的报道,如李志超研究表明,种菇后废料的肥效比对照肥好,使冬小麦、玉米、大豆分别增产 28.7%、10.6%、30.6%,施用废料的植株比对照株高、根量多、苗壮、穗粒数多、千粒重增加^[13]。阮晓东等将菌糠用作花土,发现菌糠可改善土壤团粒结构、提高土壤有机质含量、提高土壤肥力水平及花卉抗病能力、花卉品质^[14]。朱小平等研究了有益微生物与菌糠复合物对辣椒、菠菜、小白菜、不结球白菜等蔬菜产量及营养元素吸收和土壤养分转化的影响,结果表明,微生物与菌糠的复合肥料可以促进土壤养分转化、提高产量、增加营养元素吸收^[15-18];还发现 NaCl 胁迫下施用含有链霉菌和巨大芽孢杆菌的菌糠复合肥料,有利于豌豆生长、提高光合能力、促进结瘤、提高产量^[19]。赵丽珍等研究结果表明:大豆田配合磷肥施

用菌糠,增产 16.3%~25.6%^[20]。还有研究表明,菌糠疏松透气,在土壤中进一步分解成具有良好通气蓄水能力的腐殖质,可增强土壤的透气性、避免土壤板结;还可作为一种酸性农家肥改良盐碱土壤。可见,将菌糠再利用的价值是十分可观的。

参考文献:

- [1] 陈淑云,马伟明,李波.国内外泥炭资源及其利用[J].腐植酸,2006,6:10-14.
- [2] 李学梅.食用菌菌糠的开发利用[J].河南农业科学,2003,5:40-42.
- [3] 李永兴,匡柏健,李久蒂,等.不同载体对微生物菌剂质量的影响[J].土壤肥料,1999,6:30-32.
- [4] 张堃,张德罡,姚拓,等.PGPR 菌肥制作及其对高寒牧区 3 种禾本科牧草苗期株高的影响[J].草原与草坪,2006,3:49-52.
- [5] 李元芳.有效活菌数的测定方法、允许差与判定[J].土壤肥料,1997,4:43-45.
- [6] Zucconi F, Pera A, Forte M, et al. Evaluating toxicity of immature compost [J]. *Biocycle*,1981a,22:54-57.
- [7] 中华人民共和国农业行业标准:微生物肥料 NY 227-94[S].北京:中国标准出版社,1994.
- [8] 周少奇.有机垃圾好氧堆肥法的生化反应机理[J].环境保护,1999,3:31-32.
- [9] Zucconi F, Forte M, Monaco A, et al. Biological evaluation of compost maturity[J].*Biocycle*,1981b,22:27-29.
- [10] 钱学玲,孙义.模糊综合评价法判别堆肥腐熟度研究[J].上海环境科学,2001,20(2):85-87.
- [11] 魏自民,王世平,魏丹,等.生活垃圾堆肥过程中有机态氮形态的动态变化[J].植物营养与肥料学报,2005,11(2):194-198.
- [12] 刘政峰.食用菌下脚料可制植物激素[J].中国食用菌,1997,164:19.
- [13] 李志超.种菇后废料的肥效试验[J].食用菌,1985,7(1):42.
- [14] 阮晓东.利用菌糠生产花土[J].农业科技与信息,2005,6:18.
- [15] 朱小平,王文娟,刘微,等.施用微生物加菌糠对辣椒养分吸收及土壤养分转化的影响[J].中国农学通报,2005,21(5):281-283.
- [16] 朱小平,刘微,高书国,等.有益微生物组合加菌糠对菠菜生长及土壤养分的影响[J].河北职业技术师范学院学报,2003,17(2):21-24.
- [17] 朱小平,刘微,高书国.有益微生物组合加菌糠对小白菜生长及土壤养分的影响[J].河南农业科学,2004,6:58-61.
- [18] 朱小,刘微,高书国.菌糠复合剂对不结球白菜生长发育及产量的影响[J].河北科技师范学院学报,2006,20(3):7-11.
- [19] 朱小平,刘微,高书国,等.NaCl 胁迫下施用有益微生物加菌糠对豌豆生长及结瘤的影响[J].河北科技师范学院学报,2004,18(1):20-22.
- [20] 赵丽珍,刘振钦,郑怀训,等.施用菌糠对大豆生育和产量的影响[J].吉林农业大学学报,1994,16(2):40-44.