

# 不同有机废弃物作为假单胞菌 YT3 吸附载体的研究

刘方春<sup>1</sup>, 邢尚军<sup>1\*</sup>, 马海林<sup>1</sup>, 丁延琴<sup>2</sup>, 陈波<sup>2</sup>, 杜秉海<sup>2</sup>

(1.山东省林业科学研究院 山东省森林植被生态修复工程技术研究中心, 济南 250014; 2.山东农业大学生命科学学院, 泰安 271018)

**摘要:**以草炭为对照,研究了发酵鸡粪、蚯蚓粪和菇渣作为假单胞菌(*Pseudomonas*)YT3 吸附载体的可行性。结果表明:鸡粪吸水率最低,有效菌体释放效率为 93.08%;菇渣的吸水性最高,但其菌体释放效率仅为 67.59%;菌体释放效率与载体的阳离子代换量呈极显著负相关。用浸提液培养苜蓿种子 36 h 后,鸡粪、蚯蚓粪和草炭处理的种子发芽指数均在 80%以上,初步认定肥料浸提液对植物无毒。随着 *Pseudomonas* YT3 接种时间的增加,鸡粪、蚯蚓粪和草炭处理中的活菌数均有一个明显的增加过程;在接种后第 30 d 时,3 种有机物料中的最大活菌数分别为  $8.9 \times 10^8$ 、 $7.5 \times 10^8$ 、 $5.9 \times 10^8$  CFU·g<sup>-1</sup>,分别为初始接种量的 560%、326%和 187%;在第 180 d 时,有效活菌数开始小于初始接种量。随着接种时间的延长,菇渣处理的有效活菌数呈一直下降趋势。鸡粪和蚯蚓粪,尤其是鸡粪是适宜的 *Pseudomonas* YT3 吸附载体。

**关键词:**载体;有机废弃物;草炭;微生物;肥料;假单胞菌

中图分类号:S144.1 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)06-1194-07 doi:10.11654/jaes.2013.06.016

## Different Organic Wastes as Carriers for *Pseudomonas* YT3

LIU Fang-chun<sup>1</sup>, XING Shang-jun<sup>1\*</sup>, MA Hai-lin<sup>1</sup>, DING Yan-qin<sup>2</sup>, CHEN Bo<sup>2</sup>, DU Bing-hai<sup>2</sup>

(1.Shandong Academy of Forest, Shandong Engineering Research Center for Ecological Restoration of Forest Vegetation, Ji'nan 250014, China; 2.College of Life Science, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

**Abstract:** The current study was conducted to determine whether different agricultural organic waste, namely, chicken manure, vermicompost, mushroom residue, and peat, could be used as carrier for microbial fertilizer by inoculating plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). PGPR are the rhizosphere bacteria that can enhance plant growth through a wide variety of mechanisms. The potential of PGPR in agriculture is gradually increasing because it offers an attractive way to replace chemical fertilizer use. Therefore, a bacterial strain with known positive effects on plant growth, named *Pseudomonas* YT3, was selected in the present investigation. Considering the resource utilization of agricultural organic wastes, the physico-chemical properties, bacterial strain release rate, effective live bacteria, and germination index in the 40th day were investigated. The result showed that the water absorption rate of chicken manure was the lowest, whereas the *Pseudomonas* YT3 release rate, measured at 93.08%, was the highest among all the four organic wastes. In addition, the water absorption rate of mushroom residue was highest, whereas the bacterial strain release rate was the lowest. The phytotoxicity of different organic wastes was measured with the germination index of alfalfa seeds cultured in the microbial fertilizer solution. The results indicated that, all of the germination indices, except for the mushroom residue, were above 80%, and the solution can be beneficial to plant seed development, but with no phytotoxicity. The numbers of these strains on chicken manure, vermicompost, and peat had a significantly increased. On the 30th day after inoculating *Pseudomonas* YT3, the numbers of the strain were highest at  $8.9 \times 10^8$  CFU·g<sup>-1</sup>,  $7.5 \times 10^8$  CFU·g<sup>-1</sup>, and  $5.9 \times 10^8$  CFU·g<sup>-1</sup>, which were increased by 560%, 326%, and 187% from their initial amounts, respectively. On the 180th day after inoculating the strain, the numbers of *Pseudomonas* YT3 were lower than their initial amounts. Although mushroom residue had higher initial inoculation amount, the numbers of *Pseudomonas* YT3 continually decreased with increasing inoculation time. Therefore, chicken manure and vermicompost, especially chicken manure, was better as a carrier for *Pseudomonas* YT3 than peat.

**Keywords:** carrier; organic waste; peat; microorganism; fertilizer; *Pseudomonas*

收稿日期:2012-10-29

基金项目:山东省科学技术发展计划项目(2007GG2009007);“十一五”国家科技支撑计划重大专项(2006BAD03A1505-3)

作者简介:刘方春(1978—),男,山东泰安人,博士,高级工程师,主要从事土壤肥料与生态方面的研究。E-mail:fchliu@126.com

\* 通信作者:邢尚军 E-mail:xingsj-126@126.com

施用化肥可促进植物生长,但长期并且大量施用化肥会造成水体富营养化,土壤物理性质恶化,危害食品安全甚至人类健康<sup>[1]</sup>。微生物肥料是由一种或数种有益活体微生物,特别是植物根际促生菌(Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR)接种到有机吸附载体中制成的,借助其代谢过程或代谢产物,达到促进植株生长的目的<sup>[2-3]</sup>。微生物肥料生产成本低,能显著提高农产品质量和减少化肥使用量,在农业生产中发挥着越来越重要的作用,具有良好的应用前景。保证微生物肥料中微生物的活性是制备微生物肥料的关键,载体的选用对微生物肥料质量有关键影响<sup>[4-5]</sup>。目前市场上的微生物肥料载体以草炭最为普遍,但草炭价格较高,全球草炭资源有限,短时间无法更新,所以其应用受到限制<sup>[6-7]</sup>。因此,能否找到一种更为经济环保的载体,已经成为微生物肥料生产中的突出问题之一<sup>[4-5,8]</sup>。

PGPR是生存在植物根圈范围中,对植物生长有促进或对病原菌有拮抗作用的有益细菌统称,对植物生长及病害防治有极其重要的作用,是研究微生物肥料的优良菌株资源<sup>[3,9-11]</sup>。假单胞菌(*Pseudomonas*)是一种常用的根际促生细菌,可分解葡萄糖、产接触酶、产氧化酶、还原硝酸盐,通过联合固氮、溶磷、产生铁载体、产植物激素等多种机制促进植物生长<sup>[12-13]</sup>。本研究选用的*Pseudomonas* YT3是筛选于樱桃根际土壤的一株PGPR,可产细胞分裂素,对于促进植物根系生长、活化土壤养分具有积极作用,具备开发微生物肥料的潜力<sup>[14-15]</sup>。目前关于假单胞菌作为微生物肥料的研究报道很多,但关于其吸附载体的研究较少。鸡粪、菇渣和蚯蚓粪是农业生产中最为常见的有机废弃物,具有来源广、供应稳定、易腐熟、成本低等优点。这些废弃物如不能合理利用,不仅会造成有机资源的极大浪费,而且容易引起环境污染。因此,如何有效利用这些农业有机废弃物资源,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和节约资源为出发点,研究了发酵鸡粪、杏鲍菇菇渣和蚯蚓粪替代草炭作为微生物肥料载体的可行性,以期微生物肥料的生产提供新的吸附载体,为有机废弃物的再利用另辟蹊径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 吸附载体

有机材料有鸡粪、菇渣、蚯蚓粪和草炭,其中:鸡

粪由济宁三环化工有限公司提供;菇渣为采收完杏鲍菇后的菇渣;蚯蚓粪的原料为牛粪,经赤子爱胜蚓分解而得;草炭来自吉林省梅河口市山城镇。将鸡粪、杏鲍菇菇渣采用被动通风定期翻堆的腐解方式进行发酵处理,方法如下:将不同有机废弃物堆制5~7 d,当堆温保持在50℃以上时第一次翻堆,此后每当堆温升至50℃以上时翻堆,当堆料不再出现高温(45℃以下)时,将堆料堆积起来,静置堆放1个月后自然风干,过80目筛,备用。草炭和蚯蚓粪不进行发酵处理<sup>[16]</sup>。

#### 1.1.2 微生物及培养基

微生物为山东农业大学和山东省林业科学研究院从樱桃树根际土壤中筛选出的假单胞菌(*Pseudomonas*)YT3,已保存于中国普通微生物保藏管理中心(CGMCC No. 5319)<sup>[15]</sup>;培养基为豆芽汁培养基。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 载体吸水率的测定

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<sup>[5]</sup>。

#### 1.2.2 微生物肥料的制作

将不同有机物料在121℃条件下间歇灭菌,每次灭菌1 h,灭菌后分装在已灭菌的塑料袋中备用。准确称取不同有机物料200 g,在无菌条件下,接种*Pseudomonas* YT3菌液至混合物的含水量为30%,充分混匀后装入自封袋,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。将其置于常温干燥阴凉处<sup>[5]</sup>。

#### 1.2.3 不同载体中有效菌体的释放

将菌剂放置在阴凉处保存,接种48 h后,取10 g样品加入100 mL生理盐水在200 r·min<sup>-1</sup>下振荡2 h,然后立即用稀释平板计数法测定释放的菌数,用释放菌数与接种菌数相比计算释放效率。

#### 1.2.4 不同载体中有效菌体的存活

分别于第15、30、45、60、90、120、150、180、210 d取10 g样品,用稀释平板计数法测定在不同时期载体中的活菌数。

#### 1.2.5 发芽指数的测定

将保存40 d的微生物肥料与蒸馏水按照1:10的比例混合,200 r·min<sup>-1</sup>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(中苜一号)置于90 mm培养皿中,

每皿 20 粒。培养皿底部铺两层直径为 90 mm 的定性滤纸,培养皿中加入不同浓度的浸提液 3.5 mL,每隔 24 h 补加对应体积分数的浸提液 0.5 mL(保证培养皿中无流动的液体,以确保苜蓿种子正常生长)。以蒸馏水为对照,每皿 3 个重复,置于 28 ℃暗培养箱中进行发芽试验。分别在第 36、60 h 测定发芽率及根长。

发芽指数(%)=(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<sup>[5]</sup>。

### 1.3 统计分析

采用 Excel 2007 处理数据并制图,采用 SAS 8.0 统计分析软件进行方差分析,LSD 法对载体的理化性质、菌株释放、不同保存期的有效活菌数及发芽指数进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同载体的理化性质

载体的理化性质对微生物肥料的质量及菌种的保藏效果有很大影响<sup>[4]</sup>。由表 1 可以看出,鸡粪中的养分含量显著高于其他有机物料,从养分角度考虑,在实际应用中,鸡粪应用价值较高。孔隙状况不仅影响载体的吸水性能,还会影响到好氧菌种在保藏过程中的氧气获得。蚯蚓粪和鸡粪的总孔隙度和持水孔隙显著低于菇渣和草炭,蚯蚓粪的通气孔隙最低,分别比鸡粪、菇渣和草炭降低了 39.42%、60.28%和 60.46%。载体的容重影响到载体的吸水效率及孔隙性,吸附载体容重不能太大或者太小。菇渣和草炭的容重显著低于鸡粪和蚯蚓粪。阳离子代换量(CEC)的大小可表征载体对养分及菌体的吸附性能,其值越大,载体的吸附性能就越强。鸡粪的 CEC 显著低于其他有机物料,分别比菇渣、蚯蚓粪和草炭降低了 46.60%、18.68%和 63.85%。

### 2.2 不同载体吸水率及有效菌体的释放

载体的吸水能力是反映菌肥质量的一个重要指标,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<sup>[5]</sup>。从表 2 可以看出,4 种载体的吸水能力大小依次为菇渣>草炭>蚯蚓粪>鸡粪。由于鸡粪容重较大,总孔隙度较小,持水孔隙度所占比例较小,吸水量也最小。菇渣的主要成分为棉籽壳及杏鲍菇的菌丝,容重小,总空隙度大,持水孔隙占有较高的比例,故而有较强的吸水能力。蚯蚓粪的总孔隙虽然同鸡粪差异不显著,但其持水孔隙所占比例明显高于鸡粪,所以其吸水率也显著大于鸡粪。由此可见,不同有机材料的吸水率是同容重、总孔隙度和持水孔隙密切相关的。总孔隙度越大,持水孔隙所占比例越高,其吸水能力愈强。在选择微生物载体时除考虑其吸附能力外,还必须测定载体的有效菌释放,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。由表 2 可以看出,菇渣虽然有很强的吸水能力,但是其相对于初始接种量的释放率仅为 67.59%,显著低于鸡粪和蚯蚓粪。因此,从菌体释放来看,菇渣并不适宜作为 *Pseudomonas* YT3 吸附载体来使用。

### 2.3 植物毒性

为了解不同有机废弃物作为载体的菌肥浸提液对种子发芽及生长的影响,选用保存至 40 d 的微生物肥料进行了发芽指数测定<sup>[5]</sup>,结果见图 1。可以看出,处理 36 h 后,菇渣的种子发芽指数为 60%~80%,其他 3 种有机物料均高于 80%。60 h 之后,菇渣

表 2 不同载体的吸水率及 *Pseudomonas* YT3 的释放率

Table 2 Water absorption rate and *Pseudomonas* YT3 release rate of different carriers

| 原料 | 吸水率 /%        | 接种菌数/<br>10 <sup>8</sup> CFU·g <sup>-1</sup> | 释放菌数 /<br>10 <sup>8</sup> CFU·g <sup>-1</sup> | 相对于初始接种<br>量的释放率 /% |
|----|---------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------|
| CM | 23.87(1.78)c  | 1.59(0.12)c                                  | 1.48(0.12)c                                   | 93.08(9.51)a        |
| MR | 44.98(3.248)a | 3.58(0.19)a                                  | 2.42(0.28)a                                   | 67.59(4.44)b        |
| VP | 37.51(3.01)b  | 2.30(0.14)b                                  | 1.91(0.19)b                                   | 83.04(8.68)ab       |
| PE | 40.18(3.54)a  | 3.15(0.24)a                                  | 1.71(0.10)c                                   | 54.28(3.98)c        |

表 1 不同载体基本理化性质状况

Table 1 Basic physico-chemical properties of different carriers

| 原料      | 养分状况/g·kg <sup>-1</sup> |        |        | 孔隙状况/% |        |        | 容重/<br>g·cm <sup>-3</sup> | EC/<br>mS·cm <sup>-1</sup> | CEC/<br>cmol(+)·kg <sup>-1</sup> |
|---------|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|---------------------------|----------------------------|----------------------------------|
|         | 氮                       | 磷      | 钾      | 总孔隙度   | 持水孔隙   | 通气孔隙   |                           |                            |                                  |
| CM(鸡粪)  | 27.41a                  | 12.26a | 11.23a | 45.35b | 32.69b | 12.66b | 0.47a                     | 2.64b                      | 26.51d                           |
| MR(菇渣)  | 25.58a                  | 2.66b  | 13.21a | 78.64a | 59.33a | 19.31a | 0.38b                     | 3.29a                      | 49.64b                           |
| VP(蚯蚓粪) | 18.24b                  | 14.13a | 12.94a | 48.24b | 40.57b | 7.67c  | 0.51a                     | 1.98c                      | 32.60c                           |
| PE(草炭)  | 17.40b                  | 2.21b  | 2.64b  | 76.64a | 57.24a | 19.40a | 0.34b                     | 0.46d                      | 73.34a                           |

注:同列不同小写字母表示在 LSD0.05 水平差异显著。下同。

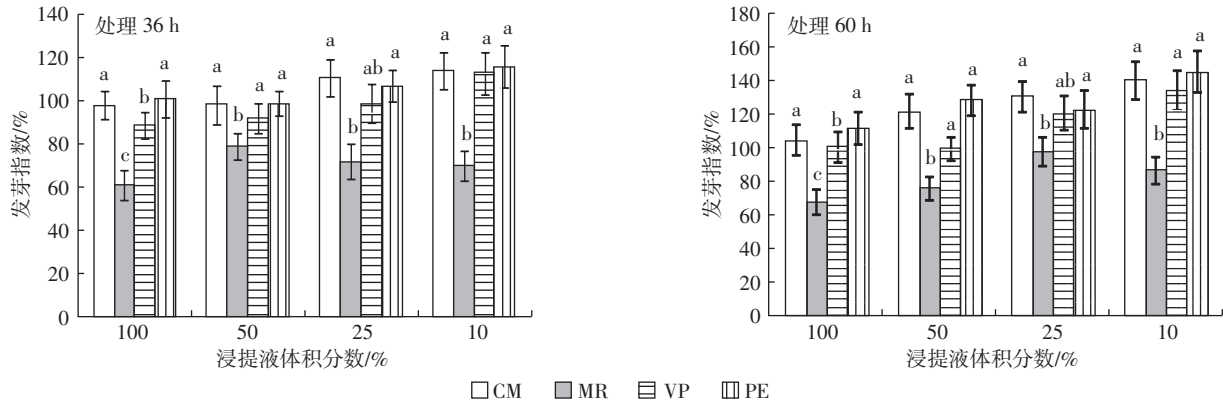


图 1 不同浓度菌肥浸提液对苜蓿种子发芽指数的影响

Figure 1 Germination index after culturing 36 h and 60 h treated with *Pseudomonas* YT3 solution

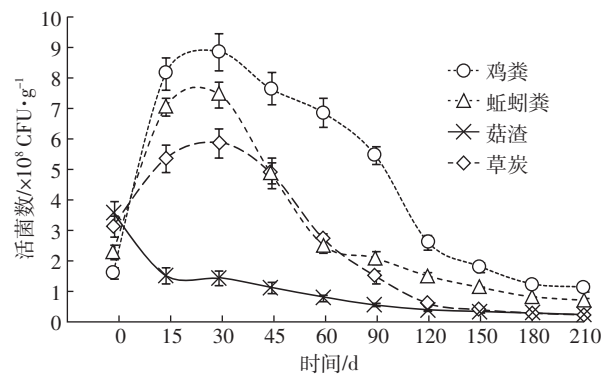
100%、50%体积分数的浸提液的发芽指数仍低于80%,其他载体的发芽指数均高于100%。这表明除菇渣外,其他3种有机物料的浸提液对苜蓿种子生长有一定的促进作用。

由图1还可以看出,无论是何种有机物料,发芽指数均随着浸提液浓度的降低而有所升高。以鸡粪为例,浸提液体积分数为50%、25%和10%时的发芽指数比100%时分别提高了8.16%、13.27%和23.47%。其原因可能是高浓度溶液中盐浓度较高,对苜蓿根系的生长有一定的抑制作用。但是菌肥的施用量一般为 $0.5\sim 1.5\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ,可溶性盐的积累量相对于施用面积来说非常小,因此在实际应用中不会对种子发芽产生影响。此外,处理60 h后,苜蓿种子发芽指数比在处理36 h时有一定程度的提高。微生物与载体的相互作用过程中,微生物利用载体中丰富的碳源和氮源进行生长繁殖,将有机氮转变为无机形态的矿化氮,矿化氮的积累对植物生长有一定的抑制作用。随着培养时间的延长,矿化氮的挥发导致浸提液中盐浓度降低,抑制作用逐渐降低<sup>[7]</sup>,从而导致发芽指数有一定程度的提高。

## 2.4 不同载体对 *Pseudomonas* YT3 存活的影响

不同时期菌肥中的活菌数如图2所示。可以看出,*Pseudomonas* YT3 在各种载体中的存活状况随时间发生了明显的变化。在整个保存期间,4种有机物料中的有效活菌数差异均达显著水平。总体而言,在第210 d时,4种有机物料中有效活菌数均在 $2\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上,符合微生物肥料的行业质量标准。

由于载体的初始含水量不同,为了保证肥料中相同的含水量,不同载体的初始接种值差异达显著水平。菇渣接种数量最高,为 $3.58\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ ,而鸡粪最低,仅为菇渣的44.4%( $1.59\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ )。随着

图 2 不同载体对 *Pseudomonas* YT3 存活的影响Figure 2 Effect of different carriers on the survival of *Pseudomonas* YT3

*Pseudomonas* YT3 接种时间的增加,除菇渣外,其他3种有机废弃物中的活菌数均有一个明显的增加过程,在第15 d时便迅速上升,尤其是鸡粪,第15 d时,其有效活菌数达到初始接种量的516%。在接种至第30 d时,鸡粪、菇渣和草炭中活菌数达到最大值,分别为初始接种量的560%、326%和187%。*Pseudomonas* YT3 数量的大幅度增加,可能是由于菌体接种到有机物料后,扩大了生存空间,同时得到了一定的营养和氧气的结果。虽然菇渣初始接种量较大,但随着接种时间的延长,有效活菌数呈一直下降趋势,可能是菇渣中盐分含量较高(表1),对*Pseudomonas* YT3 的生长繁殖有一定的抑制作用。在第180 d时,4种有机物料中的有效活菌数分别为 $1.22\times 10^8$ 、 $0.82\times 10^8$ 、 $0.27\times 10^8$ 、 $0.25\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 。鸡粪、蚯蚓粪和草炭中的菌体存活数分别在第180、90 d和第60 d时,开始低于接种的初始值。

## 2.5 载体理化性质同菌体吸附、释放及成活的相关分析

载体的理化性质决定了菌株的吸附、存活数和植物毒性状况。表3显示了载体的基本理化性质与载体

的吸水率、*Pseudomonas* YT3 释放率、存活数(180 d)和发芽指数(60 h,浸提液体积分数为 100%)的相关性。可以看出,载体的吸水率主要是由孔隙状况决定的,总孔隙度和持水孔隙越大,吸水性能越强。菌株在不同载体中的释放除了受载体的孔隙状况影响外,最主要的是受到载体的阳离子代换能力的影响,阳离子代换能力越强,越不利于菌株的释放。*Pseudomonas* YT3 的存活数和发芽指数与载体理化性质之间的相关系数均未达显著水平,部分说明菌株的存活数和发芽指数是由载体的综合性质决定的。

### 3 讨论

#### 3.1 不同有机废弃物与 YT3 的存活

有机物料作为微生物的吸附载体,归根结底其有效活菌数要高。本研究中,虽然鸡粪的初始接种量比草炭少,但从第 15 d 开始,鸡粪中的有效活菌数显著高于草炭,差异达显著水平,对于 *Pseudomonas* YT3 而言,是一种非常好的吸附载体。关于鸡粪作为微生物吸附载体的研究也很多。李敏清等以堆肥作为 3 株功能芽胞细菌液体菌剂的载体,研究了畜禽粪便堆肥代替草炭作为功能微生物载体的可行性和最适条件<sup>[4]</sup>,结果认为鸡粪在 72 h 内的有效活菌数均显著低于草炭,而混合载体(50%草炭+50%鸡粪)的有效活菌数随着时间的延长而增加,与草炭无显著差异,这与本研究结论相差很大。造成这种差异的原因可能有两个,一是功能菌不同,二是草炭本身差异很大。本研究应用的菌株是假单胞菌,草炭是东北草炭,而李敏清等使用的草炭来源于广州市三力园艺有限公司,应用 3 种芽孢杆菌作为研究对象,不同种类功能菌在不同有机物料中的表现差异很大。大量研究表明,完全腐熟的堆肥可作为微生物菌剂载体<sup>[18]</sup>,本研究结果证实,鸡粪经腐熟发酵后是一种良好的假单胞菌吸附载体。此外,在大部分时间内,蚯蚓粪中的活菌数也显著高于对照草炭,未经发酵的蚯蚓粪同样是一种良好的微生物吸附载体。由此分析认为,对于 *Pseudomonas*

YT3 而言,鸡粪是最好的吸附载体,其次为蚯蚓粪,而菇渣和草炭并不适于作为该菌种的吸附载体。

#### 3.2 不同有机废弃物与 YT3 的释放

前人关于微生物载体的研究,多是从载体的吸附能力和菌体存活两方面考虑<sup>[4,19-20]</sup>,但有效菌数的释放同样重要<sup>[21]</sup>。从不同载体的吸水能力及菌体释放情况来看,菇渣虽然有很强的吸水能力,但是其相对于初始接种量的菌体释放率只有鸡粪的 72.62%,从菌体释放率来看,菇渣并不适宜作为 *Pseudomonas* YT3 吸附载体来使用。鸡粪的吸水率并不高,但却有着最高的菌体释放率。因此,鸡粪作为吸附载体,还可以考虑同其他吸水性能较强的有机物料配合使用。从载体理化性质与菌体释放的相关性分析结果来看,菌体释放与载体的 CEC 呈极显著的负相关关系,具有较高阳离子代换能力的吸附载体不易直接作为微生物吸附载体使用。本研究选用农业生产中常见的 4 种有机物料,采用常规好氧发酵工艺对鸡粪和菇渣进行预处理,这对有机废弃物的发酵处理来说具有一定的代表性。本研究发酵鸡粪的 CEC 值为  $26.51 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ ,与文献报道畜禽粪发酵处理后的值相差不大,但明显低于菇渣、草炭和蚯蚓粪,这可能与不同有机废弃物中有机物质的含量及成分差异有关。有研究表明,秸秆畜禽粪发酵过程中,CEC 从  $13.2 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$  增加到  $21.5 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ ,发酵周期越长,CEC 值越大<sup>[22]</sup>。因此,合理控制有机废弃物的发酵程度是提高有效菌体释放的关键。

#### 3.3 不同有机废弃物与微生物肥料

微生物肥料首先要确保对植物无毒才可使用,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。刘雯雯等认为,发芽指数达到 80%以上时,有机物料对植物无毒性<sup>[5]</sup>。实验中各处理浸提液在培养苜蓿种子 60 h 之后,除菇渣外都有 80%以上的发芽指数,表明已达到无毒标准。此外,除菇渣 100%、50%体积分数

表 3 载体理化性质与载体性能相关性分析

Table 3 Correlation analysis between carriers basic physico-chemical properties and related characteristics

| 原料   | 氮     | 磷     | 钾     | 总孔隙度   | 持水孔隙   | 通气孔隙  | 容重    | EC    | CEC     |
|------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|---------|
| 吸水率  | -0.25 | -0.87 | -0.23 | 0.95*  | 0.99** | 0.75  | -0.78 | -0.08 | 0.76    |
| 释放率  | 0.52  | 0.89* | 0.68  | -0.92* | -0.92* | -0.77 | 0.89* | 0.55  | -0.98** |
| 存活数  | 0.87  | 0.26  | 0.35  | -0.40  | -0.54  | -0.03 | 0.23  | 0.60  | -0.58   |
| 发芽指数 | -0.49 | 0.34  | -0.62 | -0.56  | -0.45  | -0.32 | 0.16  | -0.78 | 0.08    |

注:\*,0.05 显著水平;\*\*0.01 显著水平。

外,其他载体的发芽指数均高于100%,说明有机物料的浸提液对苜蓿种子的生长有一定促进作用。

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微生物肥料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,微生物肥料就会失去原有效力<sup>[5]</sup>。生物有机肥行业技术要求贮存至第180 d时,有效活菌数的含量在 $0.2 \times 10^8$  CFU·g<sup>-1</sup>以上。本研究所用的4种有机物料在第180 d时的有效活菌数均达到生物有机肥的质量标准,鸡粪和蚯蚓粪中存活率分别为77.1%和29.8%,显著高于菇渣的7.5%和草炭的7.9%。此外,从*Pseudomonas* YT3在不同载体中数量的动态变化来看,接种30 d后,有效活菌数最高(菇渣除外)。因此,微生物肥料生产1个月左右时施用,将会取得最佳的施用效果。

#### 4 结论

本实验探讨了不同农业有机废弃物(发酵鸡粪、蚯蚓粪和菇渣)替代草炭作为*Pseudomonas* YT3吸附载体的可行性,得到以下结论:

(1)鸡粪吸水率最低,有效菌体释放效率最高,菇渣的吸水性最高,但其菌体释放效率最低。

(2)有效菌体释放效率与载体的阳离子代换量呈极显著负相关,阳离子代换能力很强的有机废弃物不适于作为吸附载体使用。

(3)发酵鸡粪、蚯蚓粪和草炭处理的种子发芽指数>80%,浸提液对植物无毒。

(4)随着*Pseudomonas* YT3接种时间的增加,鸡粪、蚯蚓粪和草炭中的活菌数先增加后减少,接种至第30 d时最大;菇渣的初始接种量最大,但随着接种时间的延长,有效活菌数一直下降。

综上所述,鸡粪和蚯蚓粪,尤其是鸡粪是适宜的吸附载体,而菇渣并不适于作为吸附载体使用。

#### 参考文献:

- [1] Adesemoye A O, Klopper J W. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 85:1-12.
- [2] Karakurt H, Kotan R. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on fruit set, pomological and chemical characteristics, color values, and vegetative growth of sour cherry (*Prunus cerasus* cv. Kütahya)[J]. *Turk J Biol*, 2011, 35:283-291.
- [3] Abbasi M K, Sharif S, Kazmi M, et al. Isolation of plant growth promot-

- ing rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants[J]. *Plant Biosyst*, 2011, 145: 159-168.
- [4] 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.  
LI Min-qing, YUAN Ying-ying, OU Wei-jia, et al. Using animal manure as carrier of functional microorganism[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(5):1007-1013.
- [5] 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.  
LIU Wen-wen, YAO Tuo, SUN Li-na, et al. The feasibility of spent mushroom substrate as a kind of microbial fertilizer carrier[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2):787-791.
- [6] RSBP and English Nature. Peat eroding out-towards a sustainable UK growing media industry[R]. London: Rainbow Wilson Associates, 2001.
- [7] 刘方春, 马海林, 马丙尧, 等. 菇渣用作无纺布容器育苗成型机配套基质的研究[J]. *生态与农村环境学报*, 2010, 26(5):477-481.  
LIU Fang-chun, MA Hai-lin, MA Bing-yao, et al. Use of used mushroom cultivation medium as raw material in making seedling pots of non-woven fabric[J]. *Journal of Ecology and Rural Environmental*, 2010, 26(5):477-481.
- [8] Ben R F, Prevost D, Yezza A. Agro-industrial waste materials and wastewater sludge for rhizobial inoculants production: A review [J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98:3535-3546.
- [9] 陈佛保, 柏珩, 林庆祺, 等. 植物根际促生菌(PGPR)对缓解水稻受土壤锌胁迫的作用[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(1):67-74.  
CHEN Fo-bao, BAI Jun, LIN Qing-qi, et al. Application of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for reducing zinc stress on paddy rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(1):67-74.
- [10] Verma J P, Yadav J, Tiwari K N, et al. Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production[J]. *International Journal of Agricultural Research*, 2010, 5:954-983.
- [11] Krey T, Caus M, Baum C, et al. Interactive effects of plant growth-promoting rhizobacteria and organic fertilization on P nutrition of *Zea mays* L. and *Brassica napus* L.[J]. *J Plant Nutr Soil Sci*, 2011, 174:602-613.
- [12] 张伟琼, 聂明, 肖明. 荧光假单胞菌生防机理的研究进展[J]. *生物学杂志*, 2007, 24(3):9-11, 24.  
ZHANG Wei-qiong, NIE Ming, XIAO Ming. Advances in biocontrol mechanism of *Pseudomonas fluorescens*[J]. *Journal of Biology*, 2007, 24(3):9-11, 24.
- [13] Weyens N, Lelie D V D, Taghavi S, et al. Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation [J]. *Trends Biotechnol*, 2009, 27:591-598.
- [14] 刘方春, 邢尚军, 马海林, 等. 生物肥对冬枣生物学特性及产量和品质影响[J]. *水土保持学报*, 2010, 24(6):222-226.  
LIU Fang-chun, XING Shang-jun, MA Hai-lin, et al. Effects of biological-organic fertilizer on biological characteristics, yield and quality of *Zizyphus jujube* Mill. Dongzao trees[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(6):222-226.
- [15] 马海林, 杜秉海, 邢尚军, 等. 一株樱桃根际促生假单胞菌及其应

- 用:中国, 201110376284. 0[P]. 2012-03-28.
- MA Hai-lin, DU Bing-hai, XING Shang-jun, et al. A plant growth *Pseudomonas* and its application: China, 201110376284. 0[P]. 2012-03-28.
- [16] Peternity J S, Brian A K. Compost utilization in horticulture cropping systems[M]. London Publishers, 2001:51-93.
- [17] 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]. 植物营养与肥科学报, 2005, 11(2):194-198.
- WEI Zi-min, WANG Shi-ping, WEI Dan, et al. Dynamic changes of organic nitrogen forms during the municipal solid wastes composting[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(2):194-198.
- [18] 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.
- ZHANG Zhi-hong, LI Hua-xing, FENG Hong, et al. Compost as a carrier for microbial inoculants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(7):1382-1387.
- [19] Yogeve A, Raviv M, Kritzman G, et al. Suppression of bacterial canker of tomato by composts[J]. *Crop Protection*, 2009, 28:97-103.
- [20] Georgakopoulos D G, Fiddaman P, Leifert C, et al. Biological control of cucumber and sugar beet damping-off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal inoculants[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2002, 92:1078-1086.
- [21] 李永兴, 匡柏健, 李久帝. 不同载体对微生物菌剂质量的影响[J]. 土壤肥料, 1999(6):30-32.
- LI Yong-xing, KUANG Bo-jian, LI Jiu-di. Effect of different carriers on microbial quality[J]. *Soil Fertilizer*, 1999(6):30-32.
- [22] 李国学, 张福锁. 固体废物堆肥化与有机复混肥生产[M]. 北京:化学工业出版社, 2001:32-33.
- LI Guo-xue, ZHANG Fu-suo. Solid waste composting and production of organic compound fertilizer[M]. Beijing:Chemical Industry Press, 2001:32-33.