



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106064967 A

(43)申请公布日 2016.11.02

(21)申请号 201610374550.9

(22)申请日 2016.05.30

(71)申请人 大连三科生物工程有限公司

地址 116025 辽宁省大连市高新园区信达街57号

(72)发明人 崔昌娜 崔国臣

(74)专利代理机构 大连东方专利代理有限责任公司 21212

代理人 刘慧娟 李馨

(51) Int. Cl.

C05F 15/00(2006.01)

C05F 11/08(2006.01)

权利要求书2页 说明书9页

(54)发明名称

一种根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥的制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥,其通过将粉碎的秸秆和牛粪作为固体有机物料,再添加5%比例的具有特定腐熟功效的有机物料腐熟剂并加适量的水,与有机物料混合后,保持含水量为60%左右,自然室外温度下发酵5-10天腐熟形成初肥。再添加适当比例的各类营养元素与发酵物料混合均匀后,添加4%比例的根茎类蔬菜专用的促生长复合菌剂均匀混合后获得的生物肥料。本发明解决了单纯施用化肥、普通有机肥、农家肥以及纯微生物菌肥所存在的种种弊端,并充分结合了根茎类蔬菜各个时期的生长特点及对养分的需求,注意调节其营养生长与生殖生长的矛盾,是一种尤其适用于根茎类蔬菜生长、高效、优质的有机复合生物肥。在根茎类蔬菜生产种植方面具有较好的应用前景。

1.一种根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥,其特征在于,所述有机复合生物肥的制备方法包括:

(一)有机物料腐熟剂的制备

将菌种数量分别达到 10^8 个/mL以上的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CICC10088,米曲霉(*Aspergillus niger*)CICC2436,白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)ACCC30414,里氏木霉(*Trichoderma reesei*)ACCC30449的菌种发酵液按1.5~2.0:0.8~1.3:0.8~1.3:0.8~1.3的比例混合均匀后,接种于盛有复合菌剂培养基A的发酵罐中,接种量为复合菌剂培养基A总体积的5%, 30°C 下培养4~7天,使发酵液中总菌数达到 10^8 个/mL,即得到有机物料腐熟剂;

所述复合菌剂培养基A配方为:玉米面0.5~1.5g/L、玉米秸秆粉15~17g/L、麸皮0.2~0.4g/L、豆饼粉0.2~0.4g/L、Vogel's母液4mL/100mL,pH值6.0~8.0;

(二)混拌、发酵

将步骤(一)制备好的有机物料腐熟剂按发酵有机物料总质量的5%比例混合,再兑入适量的水,使总水分控制在60%左右,在发酵池经过5-10天发酵,即制得初肥;

(三)深加工

将初肥进行粉碎、烘干,按初肥质量百分比,具体添加如下营养元素:

氮3.0-5.0%、磷0.5-2.5%、钾4.0-6.0%;钙0.5~1.5%、镁0.5~1.5%;硼0.01~0.05%,锌0.01~0.05%;腐植酸类肥料5.0~10.0%;

(四)根茎类蔬菜专用促生长复合菌剂的制备

将菌种数量分别达到 10^8 个/mL以上的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)ACCC 02973、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)ACCC 10010、褐色球形固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)CGMCC 1.142、胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)CGMCC 1.153、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)ACCC02936的菌种发酵液,按(10~20%):(20~30%):(10~20%):(20~30%):(10~20%)的比例混合均匀后作为混合菌剂,接种于盛有复合菌剂培养基B的发酵罐中,接种量为复合菌剂培养基B总体积的5%,复合菌剂培养基B的pH 6.5~7.5, 30°C 下培养4~7天,使发酵液中总菌数达到 $6\sim 10\times 10^8$ 个/mL,即得到根茎类蔬菜专用微生物复合菌剂,pH为6.8,总有效活菌数为 9×10^8 个/mL;

所述复合菌剂培养基B的配方为:玉米粉15~18g/100mL、豆粕粉5~8g/100mL、酵母膏0.1~0.2g/100mL、 KH_2PO_4 0.2~2g/100mL、 K_2HPO_4 0.5~2g/100mL、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001~0.02g/100mL、NaCl 0.5~0.8g/100mL、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.001~0.01g/100mL,其余为蒸馏水;

(五)按步骤(三)深加工所获得的发酵有机物料总质量的3~5%比例添加步骤(四)获得的根茎类蔬菜专用的促生长复合菌剂获得终产品。

2.根据权利要求1所述的根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥的制备方法,其特征在于,步骤(一)所述复合菌剂培养基A配方为:玉米面0.5g/L、玉米秸秆粉15g/L、麸皮0.25g/L、豆饼粉0.25g/L、Vogel's母液4mL/100mL,pH 7.0。

3.根据权利要求1所述的根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥的制备方法,其特征在于,步骤(一)所述枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CICC10088,米曲霉(*Aspergillus niger*)CICC2436,白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)ACCC30414、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)ACCC30449的菌种发酵液按2:1:1:1的比例混合均匀。

4. 根据权利要求1所述的根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥的制备方法,其特征在于,步骤(二)所述发酵有机物料为粉碎的玉米秸秆与动物粪便按1.0~2.0:0.4~1.4质量比混合。

5. 根据权利要求1所述的根茎类蔬菜专用的生物有机肥的制备方法,其特征在于,步骤(三)所述营养元素为氮3.0%、磷2.0%、钾6.0%;钙0.6%、镁0.5%;硼0.03%,锌0.02%;腐植酸类肥料5.0%,腐植酸类肥料为腐植酸铵或者腐植酸钾。

6. 根据权利要求1所述的根茎类蔬菜专用的生物有机肥的制备方法,其特征在于,步骤(三)所述复合菌剂培养基B的配方为:玉米粉16g/100mL、豆粕粉7g/100mL、酵母膏0.1g/100mL、 KH_2PO_4 1g/100mL、 K_2HPO_4 1g/100mL、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g/100mL、NaCl 0.6g/100mL、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.01g/100mL,其余为蒸馏水。

一种根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种有机复合生物肥及其制备方法,尤其适用于根茎类蔬菜,属于农业生物有机肥制备的技术领域。

背景技术

[0002] 目前我国化肥年使用量在一亿三千万吨左右,广大农民一直以来都是使用化肥,然而长期使用化肥产生的弊端随之而来,土地板结、化学元素残留、环境污染等等一系列问题浮出水面。化肥已经不能满足可持续发展的需要,更不能成为绿色农业的支柱,各国都在寻找对策。生物有机肥就此而诞生,成为化肥的第二次革命。生物有机肥是指特定功能微生物与主要以动植物残体(如畜禽粪便、农作物秸秆等)为来源并经无害化处理、腐熟的有机物料复合而成的一类兼具微生物肥料和有机肥效应的肥料。

[0003] 而根茎类蔬菜是指以富含碳水化合物的地下器官供食用的一类蔬菜作物,包括萝卜、姜、莲藕、胡萝卜、山药等。根茎类蔬菜植株在各生长期对营养元素的吸收,肉质根生长盛期吸收量最大,幼苗期和连座期是吸收根和叶丛生长时期,需氮比磷、钾多,肉质根生长盛期,磷、钾需要量增多,尤其以钾最多。根茎类蔬菜生长前期用氮肥很重要,当氮素供应浓度前期高后期底时,生长正常良好,反之,则产量下降,出现腐烂。缺氮时幼苗细弱,肉质根生长不良,但氮过多易徒长影响肉质根膨大。根茎类蔬菜对磷的吸收利用能较强,只有当土壤中有效磷含量低于10PPM时才表现出明显的缺磷症状,其苗生长细胞弱,肉质根短小。根茎类蔬菜缺乏中微量元素易出现褐色心腐,病木栓化严重,因此要适当的补充微量元素。单纯施用化肥不能够满足根茎类蔬菜的营养需求,因此需要增施生物有机肥为其补充养分。要解决上述问题就要改变现有的生产模式,从而使养分释放符合根茎类蔬菜养分吸收要求。随着科学的发展,生物有机肥在农业中的作用渐渐显露出来。

发明内容

[0004] 本发明所述的根茎类蔬菜专用的生物有机肥是指利用微生物技术,选配具有特定腐熟功能的菌种制成菌剂,用此菌剂将固体有机物料发酵成初肥,再按适宜的比例添加各类营养元素,再配以根茎类蔬菜专用促生长复合菌剂所制成的肥料。本发明产品充分利用了具有腐熟功能菌种的特性,将各类废弃的固体有机物料发酵腐熟成肥料,变废为宝,节省资源,大大减少了环境污染;又添加根茎类蔬菜专用的促生长菌剂,此促生长复合菌剂是经查阅大量的资料,进行研究总结,根据实际要求选择几种针对根茎类蔬菜有特殊功效的有益微生物,然后通过实际反复实验,最后确定各微生物的最佳比例,保证果树各阶段的营养需求。通过各菌种之间的相互作用,起到刺激植物生长、缓解土地板结、改良土壤生态环境、防病抗病等作用,从而达到增产、高产的目的。本发明解决了单纯施用化肥、普通有机肥、农家肥以及纯微生物菌肥所存在的种种弊端。

[0005] 本发明产品所选用腐熟菌剂,其采用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CICC10088,米曲霉(*Aspergillus niger*)CICC2436,白腐菌(*Phanerochaete*

chrysosporium)ACCC30414、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)ACCC30449等具有特殊腐熟功效的菌种,按适当的比例复合发酵而成的微生物菌剂。所选用各菌种均能够产生纤维素酶、木质素酶、半纤维素酶、蜡质素酶、果胶酶等多种生物酶,通过中温菌和耐高温菌的协同作用,快速将各类废弃的有机物料发酵腐熟成肥料,变废为宝,节省资源,大大减少了环境污染。

[0006] 本发明所选用根茎类蔬菜专用的促生长复合菌剂,其含有大量的对根茎类生长发育有特殊功效的有益微生物,其采用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)ACCC 02973、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)ACCC 10010、褐色球形固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)CGMCC1.142、胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)CGMCC 1.153、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)ACCC02936等菌种发酵液混合后作为混合菌剂,经再次发酵而制备的微生物复合菌剂。本发明选取各菌种是经查阅大量的文献资料,进行研究总结,根据实际要求选择几种针对根茎类蔬菜生长发育有特殊功效的有益微生物,然后通过实际反复实验,最后确定各微生物的最佳比例,从而保证根茎类蔬菜各阶段的营养需求。

[0007] 具体的本发明所述根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥的制备方法,该方法包括如下步骤:

[0008] (一)有机物料腐熟剂的制备

[0009] 将菌种数量分别达到 10^8 个/mL以上的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CICC10088,米曲霉(*Aspergillus niger*)CICC2436,白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)ACCC30414、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)ACCC30449的菌种发酵液按1.5~2.0:0.8~1.3:0.8~1.3:0.8~1.3的体积比混合均匀后,接种于盛有复合菌剂培养基A的发酵罐中,接种量为复合菌剂培养基A总体积的5%,30℃下培养4~7天,使发酵液中总菌数达到 10^8 个/mL,即得到有机物料腐熟剂;

[0010] 所述复合菌剂培养基A配方为:玉米面0.5~1.5g/L、玉米秸秆粉15~17g/L、麸皮0.2~0.4g/L、豆饼粉0.2~0.4g/L、Vogel's母液4mL/100mL,pH值6.0~8.0;

[0011] 步骤(一)的具体制备过程为:

[0012] 1.菌种活化:将所述各菌种接于斜面培养基上;枯草芽孢杆菌28~32℃,pH为7.2~7.4,培养时间为1~3天;米曲霉培养温度25~28℃,pH为6.0~6.5,培养时间为4~7天;白腐菌培养温度25~28℃,培养时间为4~7天;

[0013] 2.一级菌种培养:将所述菌种分别接种于盛有液体培养基的50mL锥形瓶中,培养基pH为6.0~8.0,锥形瓶放入摇床振荡培养,温度为30℃,振荡24~48h;采用血球计数板计数,菌液中菌种数量分别达到 10^8 个/mL;

[0014] 3.二级发酵:将所述菌种分别接种于盛有液体培养基的1000mL锥形瓶中,培养基pH6.0~8.0,放入摇床振荡,温度为30℃,振荡48~72h;从而获得菌种数量分别达到 10^8 个/mL以上的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CICC10088,米曲霉(*Aspergillus niger*)CICC2436,白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)ACCC30414、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)ACCC30449。

[0015] 所述斜面培养基配方为:

[0016] 1.枯草芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为:牛肉浸液1.0L,蛋白胨10g,NaCl5.0g,琼脂20.0~20.5g,pH7.2~7.4,牛肉浸液的制备:瘦牛肉洗净,切碎,称取550g浸泡于1375mL

水中,浸泡一夜,过滤,过滤分装后0.6kgf/cm² 40min备用。

[0017] 2.米曲霉采用的斜面培养基配方为:5 0Be麦芽汁琼脂,5 0Be麦芽汁1.0L,琼脂15.0g,自然pH。

[0018] 3.白腐菌的斜面培养基配方为:PDA培养基,取去皮的马铃薯200克,切成小块,加水1000毫升煮沸30分钟滤去马铃薯块,将滤液补足至1000毫升,加葡萄糖20克,琼脂15克溶化后分装,15磅灭菌30分钟;自然pH。

[0019] 4.里氏木霉的斜面培养基配方:同白腐菌。

[0020] 所述液体培养基为斜面培养基不加琼脂即可。

[0021] (二)混拌、发酵

[0022] 将步骤(一)制备好的有机物料腐熟剂按发酵有机物料总质量的5%比例混合,再兑入适量的水,使总水分控制在60%左右,在发酵池经过5-10天发酵,即制得初肥;

[0023] 所述发酵具体为:将混合搅拌均匀的发酵有机物料放进发酵设施,压实填满排去空气,发酵池顶部覆盖一层塑料薄膜,上盖密封发酵、适时翻垛,翻堆时补充水分,将总水分控制在60%左右,原料手握成团,指缝有水但不滴,而松手即散为好。

[0024] 在优选的技术方案中,步骤(二)的发酵时间是指:一般夏天4-5天,春秋6-7天,冬季10天。

[0025] (三)深加工

[0026] 将初肥进行粉碎、烘干,按初肥质量百分比,具体添加如下营养元素:

[0027] 氮3.0-5.0%、磷0.5-2.5%、钾4.0-6.0%;钙0.5~1.5%、镁0.5~1.5%;硼0.01~0.05%,锌0.01~0.05%;腐植酸类肥料5.0~10.0%;

[0028] 优选情况下,添加营养元素的比例为:

[0029] a.大量元素(氮、磷、钾)的添加比例:氮3.0%、磷2.0%、钾6.0%;

[0030] b.中量元素添加比例:钙0.6%、镁0.5%;

[0031] c.微量元素的添加比例:硼0.03%,锌0.02%;

[0032] d.腐植酸类肥料的添加比例:5.0%。

[0033] (四)根茎类蔬菜专用促生长复合菌剂的制备

[0034] 将菌种数量分别达到10⁸个/mL以上的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)ACCC 02973、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)ACCC 10010、褐色球形固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)CGMCC 1.142、胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)CGMCC 1.153、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)ACCC02936的菌种发酵液,按(10~20%):(20~30%):(10~20%):(20~30%):(10~20%)的比例混合均匀后作为混合菌剂,接种于盛有复合菌剂培养基B的发酵罐中,接种量为复合菌剂培养基B总体积的5%,复合菌剂培养基B的pH 6.5~7.5,30℃下培养4~7天,使发酵液中总菌数达到6~10×10⁸个/mL,即得到根茎类蔬菜专用微生物复合菌剂,pH为6.8,总有效活菌数为9×10⁸个/mL;

[0035] 所述复合菌剂培养基B的配方为:玉米粉15~18g/100mL、豆粕粉5~8g/100mL、酵母膏0.1~0.2g/100mL、KH₂PO₄ 0.2~2g/100mL、K₂HPO₄ 0.5~2g/100mL、MgSO₄·7H₂O 0.001~0.02g/100mL、NaCl 0.5~0.8g/100mL、(NH₄)₂SO₄ 0.001~0.01g/100mL,其余为蒸馏水;

[0036] 所述步骤(四)的具体过程如下:

[0037] 1.接种:将所述各菌种(胶质芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、褐色球形固氮菌、巨大芽孢

杆菌、枯草芽孢杆菌)分别接于斜面培养基上;胶质芽孢杆菌(钾细菌)培养温度25~35℃, pH为7.5~8.0,培养时间为5天;地衣芽孢杆菌培养温度25~30℃, pH为7.0~8.0,培养时间为5天;褐色球形固氮菌培养温度为25~30℃, pH为7.0~7.5,培养时间为3~5天;巨大芽孢杆菌为27~37℃, pH为6.5~7.5,培养时间为4天;枯草芽孢杆菌培养温度27~37℃, pH为6.5~7.5,培养时间为4天;

[0038] 2.一级菌种培养:将所述步骤1制备的菌种分别按接种环一环的量接种于盛有相应液体培养基的50mL锥形瓶中,培养基pH为6.5~7.5,锥形瓶放入摇床振荡,温度为30℃,振荡24~48h;采用血球计数板计数,菌液中菌种数量分别达到 10^8 个/mL;

[0039] 3.二级发酵:将所述步骤2制备的菌种分别按5%接种于盛有液体培养基的1000mL锥形瓶中,培养基pH 6.5~7.5,放入摇床振荡,温度为30℃,振荡48~72h;使菌种数量分别达到 10^8 个/mL以上,从而制得菌种数量分别达到 10^8 个/mL以上的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)ACCC 02973、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)ACCC 10010、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)ACCC02936、褐色球形固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)CGMCC1.142、胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)CGMCC 1.153的菌种发酵液。

[0040] 所述根茎类蔬菜微生物复合菌剂制备过程中用到的斜面培养基配方为:

[0041] 1.胶质芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为: KH_2PO_4 0.06g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、

[0042] $\text{CaSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.004g、蛋白胨5g、玉米浆(50%干重)2.5g、乳糖15g、NaCl 4g、蒸馏水1000mL、琼脂25g、pH 7.1;

[0043] 2.地衣芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为:

[0044] 蛋白胨10.0g,牛肉浸取物3.0g,氯化钠5.0g、琼脂15g、蒸馏水1000mL、pH 7.0;

[0045] 3.巨大芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为:牛肉膏3g、蛋白胨5g、琼脂15g、NaCl 5g、蒸馏水1000mL、pH 7.0;

[0046] 4.枯草芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为:牛肉膏10g、蛋白胨10g、NaCl 5g、葡萄糖10g,琼脂15g,蒸馏水1000mL,pH 7.0;

[0047] 5.褐色球形固氮菌采用的斜面培养基配方为: KH_2PO_4 0.2g、 K_2HPO_4 0.8g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g、 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1g、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 微量、酵母膏0.5g、甘露醇20g、 FeCl_3 微量、琼脂15g、蒸馏水1000mL、pH 7.2;

[0048] 所述液体培养基配方为斜面培养基不加琼脂制得。

[0049] (五)按步骤(三)深加工所获得的发酵物料总质量的3~5%比例添加步骤(四)获得的根茎类蔬菜专用的促生长复合菌剂获得终产品,将物料混合均匀后,经造粒机造粒或成粉,检测合格后,包装入库。

[0050] 对于上述技术方案,在优选的情况下,步骤(一)所述复合菌剂培养基A配方为:玉米面0.5g/L、玉米秸秆粉15g/L、麸皮0.25g/L、豆饼粉0.25g/L、Vogel's母液4mL/100mL,pH 7.0。

[0051] 对于上述技术方案,在优选的情况下,步骤(一)所述枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CICC10088,米曲霉(*Aspergillus niger*)CICC2436,白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)ACCC30414、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)ACCC30449的菌种发酵液按2:1:1:1的比例混合均匀。

[0052] 对于上述技术方案,在优选的情况下,步骤(二)所述发酵有机物料为粉碎的玉米

秸秆与动物粪便按1.0~2.0:0.4~1.4质量比混合,所述动物粪便通常为鸡粪或牛粪。

[0053] 对于上述技术方案,在优选的情况下,步骤(三)所述复合菌剂培养基B的配方为:玉米粉16g/100mL、豆粕粉7g/100mL、酵母膏0.1g/100mL、 KH_2PO_4 1g/100mL、 K_2HPO_4 1g/100mL、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g/100mL、 NaCl 0.6g/100mL、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.01g/100mL,其余为蒸馏水。

[0054] 本发明的技术方案是经过近几年的不懈努力,结合根茎类蔬菜各个时期的生长特点及对养分的需求,注意调节其营养生长与生殖生长的矛盾,最终研制出一种高效优质的有机复合生物肥。其综合运用了微生物技术、化肥工业和农业技术等最新成果,优先制备了一种高效的富含有机质、N·P·K营养元素和某些微量元素、植物生长调节剂等物质有机结合起来,由特定工艺最终形成了以有机质为主体的营养合理、N·P·K比例适当的颗粒状营养源。该种肥料不仅具有高利用率、肥效期长的优点,而且具有改良土壤、提高农作物品质,增强作物抗逆性,增加产量,减少污染,刺激作物生长发育等特点,省时省工,具有良好的社会效益和经济效益。

[0055] 有益效果

[0056] 本发明所述的根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥是选用具有特定具有腐熟功能的菌种制成菌剂,用此菌剂将有机固体物料发酵腐熟成初肥,再按适宜的比例添加大量元素(氮、磷、钾)、中量元素、微量元素及其他特殊物质,再配以功效相应的促进根茎类蔬菜生长的菌剂及其他特殊物质所制成的肥料。腐熟剂中含有大量的枯草芽孢杆菌、米曲霉、里氏木霉、白腐菌等,能够产生纤维素酶、木质素酶、半纤维素酶、蜡质素酶、果胶酶等多种生物酶,通过中温菌和耐高温菌的协同作用,快速将各类废弃的固体有机物料发酵腐熟成肥料,变废为宝,节省资源,大大减少了环境污染;又添加各类营养元素及根茎类蔬菜专用的促生长复合菌剂,通过对根茎类蔬菜有特殊功效的有益微生物枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、胶质芽孢杆菌等各菌种之间的相互作用,起到刺激植物生长、缓解土地板结、改良土壤生态环境、从而达到增产、高产的目的。

具体实施方式

[0057] 本发明的下述非限制性实施例可以使本领域的普通技术人员更全面地理解本发明,但不以任何方式限制本发明。实施例中所用的生物材料均可以由商业途径获得。

[0058] 实施例一:根茎类蔬菜专用有机复合生物肥的制备

[0059] 本发明根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥产品是指利用微生物技术,选配具有特定腐熟功能的菌种制成菌剂,用此菌剂将有机固体物料发酵腐熟成初肥,再配以各种营养元素及根茎类蔬菜专用的促生长复合菌剂所制成的生物肥料。其具体实施方式如下:

[0060] (一)有机物料腐熟剂的制备

[0061] 采用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CICC10088,米曲霉(*Aspergillus niger*)CICC2436,白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)ACCC30414、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)ACCC30449等具有高效腐熟作用的菌种按适当的比例复合发酵而成的腐熟菌剂。

[0062] 1.菌种活化:将所述各菌种接于斜面培养基上;枯草芽孢杆菌28~32℃,pH为7.2~7.4,培养时间为1~3天;米曲霉培养温度25~28℃,pH为6.0~6.5,培养时间为4~7天;

白腐菌培养温度25~28℃,培养时间为4~7天;

[0063] 2.一级菌种培养:将所述菌种分别接种于盛有液体培养基的50mL锥形瓶中,培养基pH为6.0~8.0,锥形瓶放入摇床振荡培养,温度为30℃,振荡24~48h;采用血球计数板计数,菌液中菌种数量分别达到 10^8 个/mL;

[0064] 3.二级发酵:将所述菌种分别接种于盛有液体培养基的1000mL锥形瓶中,培养基pH6.0~8.0,放入摇床振荡,温度为30℃,振荡48~72h;使菌种数量分别达到 10^8 个/mL以上,将各菌种按所述菌种的质量百分比混合;

[0065] 4.三级发酵:分别将枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)CICC10088,米曲霉(*Aspergillus niger*)CICC2436,白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)ACCC30414、里氏木霉(*Trichoderma reesei*)ACCC30449的菌种发酵液按2:1:1:1的比例混合均匀后,接种于盛有复合菌剂培养基的发酵罐中,复合菌剂培养基pH 6.0~8.0,接种量为5%,30℃下培养4~7天,使发酵液中菌数达到 10^8 个/mL,即得到有机物料腐熟剂。

[0066] 所述斜面培养基配方为:

[0067] 1.枯草芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为:普通琼脂:牛肉浸液1.0L,蛋白胨10g,NaCl5.0g,琼脂20.0-20.5g,pH7.2-7.4,牛肉浸液的制备:瘦牛肉洗净,切碎,称取550g浸泡于1375mL水中,浸泡一夜,过滤,过滤分装后 $0.6\text{kgf}/\text{cm}^2$ 40min备用。

[0068] 2.米曲霉采用的斜面培养基配方为:5⁰Be麦芽汁琼脂,5⁰Be麦芽汁1.0L,琼脂15.0g,自然pH。

[0069] 3.白腐菌的斜面培养基配方为:PDA培养基,取去皮的马铃薯200克,切成小块,加水1000毫升煮沸30分钟滤去马铃薯块,将滤液补足至1000毫升,加葡萄糖20克,琼脂15克,溶化后分装,15磅灭菌30分钟。自然pH。

[0070] 4.里氏木霉的斜面培养基配方为:同白腐菌配方。

[0071] 所述液体培养基为斜面培养基不加琼脂即可。

[0072] 所述复合菌剂培养基配方为:玉米面0.5g/L、玉米秸秆粉15g/L、麸皮0.25g/L、豆饼粉0.25g/L、Vogel's母液4mL/100mL,pH值7.0。

[0073] (二)混拌、发酵

[0074] 准备500kg粉碎的玉米秸秆与200kg牛粪作为发酵的原始有机物料,将制备好的有机物料腐熟剂按发酵有机物料总质量的5%兑入适量的水中,与有机物料均匀混拌,原料手握成团,指缝有水但不滴,而松手即散为好(总水分在60%左右)。将混合搅拌均匀的发酵物料放进发酵设施,压实填满排去空气,发酵池顶部覆盖一层塑料薄膜,上盖密封发酵、适时翻堆,翻堆时补充水分,将总水分控制在60%左右。经过10天发酵,即制得初肥。

[0075] (三)各类营养元素的添加

[0076] 物料发酵完成后,按肥剂型要求进行粉碎、烘干,而后添加各类营养元素,包括大量元素(氮、磷、钾)、中量元素(钙、镁)、微量元素(硼、锌),按发酵物料质量计算,具体添加比例如下:

[0077] a.大量元素(氮、磷、钾)的添加比例:氮3.0%、磷2.0%、钾6.0%;

[0078] b.中量元素添加比例:钙0.6%、镁0.5%;

[0079] c.微量元素的添加比例:硼0.03%,锌0.02%;

[0080] d.腐植酸类肥料的添加比例:5.0%。

[0081] (四)根茎类蔬菜专用促生长复合菌剂制备及添加

[0082] 采用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)ACCC 02973、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)ACCC 10010、褐色球形固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)CGMCC 1.142、胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)CGMCC 1.153、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)ACCC02936等具有特殊功效的菌种发酵液混合后作为混合菌剂,经再次发酵而制备的微生物复合菌剂。

[0083] 所述的根茎类蔬菜微生物复合菌剂制备步骤如下:

[0084] 1.接种:将所述各菌种(胶质芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、褐色球形固氮菌、巨大芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌)分别接于斜面培养基上;胶质芽孢杆菌(钾细菌)培养温度25~35℃,pH为7.5~8.0,培养时间为5天;地衣芽孢杆菌培养温度25~30℃,pH为7.0~8.0,培养时间为5天;褐色球形固氮菌培养温度25~35℃,pH为7.0~7.5,培养时间为3~5天;巨大芽孢杆菌为27~37℃,pH为6.5~7.5,培养时间为4天;枯草芽孢杆菌培养温度27~37℃,pH为6.5~7.5,培养时间为4天;

[0085] 2.一级菌种培养:将所述步骤1制备的菌种分别按接种一环的量接种于盛有相应液体培养基的50mL锥形瓶中,培养基pH为6.5~7.5,锥形瓶放入摇床振荡,温度为30℃,振荡24~48h;采用血球计数板计数,菌液中菌种数量分别达到 10^8 个/mL;

[0086] 3.二级发酵:将所述步骤2制备的菌种分别按5%接种于盛有液体培养基的1000mL锥形瓶中,培养基pH 6.5~7.5,放入摇床振荡,温度为30℃,振荡48~72h;使菌种数量分别达到 10^8 个/mL以上,从而制得胶质芽孢杆菌(钾细菌)发酵液、褐色球形固氮菌发酵液、地衣芽孢杆菌发酵液、巨大芽孢杆菌发酵液和枯草芽孢杆菌发酵液。

[0087] 将各菌种按质量百分比混合后进行再次发酵:胶质芽孢杆菌(钾细菌)发酵液30%、巨大芽孢杆菌发酵液30%、褐色球形固氮菌发酵液20%、地衣芽孢杆菌发酵液10%、枯草芽孢杆菌发酵液10%。

[0088] 4.三级发酵:将所述步骤3制备的混合后的菌液接种于盛有复合菌剂培养基的发酵罐中,复合菌剂培养基pH 6.5~7.5,接种量为复合菌剂培养基总质量的5%,30℃下培养4~7天,使发酵液中菌数达到 $6\sim 10\times 10^8$ 个/mL,即得到根茎类蔬菜专用微生物复合菌剂,pH为5.0,菌数含量均达到 10^9 个/mL。

[0089] 所述斜面培养基配方为:

[0090] 1.胶质芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为: KH_2PO_4 0.06g、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g、

[0091] $\text{CaSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.004g、蛋白胨5g、玉米浆(50%干重)2.5g、乳糖15g、NaCl 4g、蒸馏水1000mL、琼脂25g、pH 7.1;

[0092] 2.地衣芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为:蛋白胨10.0g,牛肉浸取物3.0g,氯化钠5.0g、琼脂15g、蒸馏水1000mL、pH 7.0;

[0093] 3.巨大芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为:牛肉膏3g、蛋白胨5g、琼脂15g、NaCl 5g、蒸馏水1000mL、pH 7.0;

[0094] 4.枯草芽孢杆菌采用的斜面培养基配方为:牛肉膏10g、蛋白胨10g、NaCl 5g、葡萄糖10g,琼脂15g,蒸馏水1000mL,pH 7.0;

[0095] 5.褐色球形固氮菌采用的斜面培养基配方为: KH_2PO_4 0.2g、 K_2HPO_4 0.8g、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g、 $\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1g、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 微量、酵母膏0.5g、甘露醇20g、 FeCl_3 微量、琼脂

15g、蒸馏水1000mL、pH 7.2；

[0096] 所述液体培养基配方为斜面培养基不加琼脂制得。

[0097] 所述复合菌剂培养基配方为：玉米粉2~20g/100mL、豆粕粉1~10g/100mL、酵母膏0.05~0.2g/100mL、KH₂PO₄ 0.2~2g/100mL、K₂HPO₄ 0.5~2g/100mL、MgSO₄·7H₂O 0.001~0.02g/100mL、NaCl 0.5~0.8g/100mL、(NH₄)₂SO₄ 0.001~0.01g/100mL，其余为蒸馏水。

[0098] 按发酵物料总质量的4%比例添加根茎类蔬菜专用的促生长复合菌剂，再次混合均匀。

[0099] (五)造粒或成粉，检测、包装、入库

[0100] 将物料混合均匀后，经造粒机造粒或成粉，检测合格后，包装入库。

[0101] 实施例二：根茎类蔬菜专用有机复合生物肥在洋葱上的应用效果试验

[0102] 1.材料和方法

[0103] 1.1供试材料

[0104] 洋葱品种：红福洋葱

[0105] 供试肥料：三科根茎类蔬菜专用有机复合生物肥，该肥料由大连三科生物工程有
限公司自主研发及生产，25kg/袋，颗粒状。

[0106] 1.2试验田情况

[0107] 试验田土壤为壤土，有机质含量为2.9%，pH值6.5，地势平整，肥力中等。

[0108] 1.3试验方法

[0109] 试验设置为两组，采用随机排列，每个处理分别三次重复，每个试验小区面积667平方米。

[0110] 所述的两组处理：

[0111] ①对照组，常规施肥；②试验组，严格按照根茎类蔬菜专用有机复合生物肥产品使用说明施用。

[0112] 在洋葱收获期测量株高，统计葱头产量，并测定Vc，可溶性糖含量。VC测定采用钼蓝比色法，可溶性糖含量采用斐林-碘量法。

[0113] 2.结果与分析

[0114] 表1.施用根茎类蔬菜专用的有机复合生物肥对于洋葱产量及品质的影响

[0115]

处理	株高(cm)	产量(kg)/亩	增产率(%)	Vc(mg/g)	可溶性糖(mg/g)
试验组	78.6	7594	16.4	1.365	46.56
对照组	78.4	6523	—	1.123	41.65

[0116] 从表1可以看出，施用根茎类蔬菜专用有机复合生物肥对株高有一定的影响，但与对照组差异不大。从亩产量数据可看到，施用有机复合生物肥可显著提高洋葱产量，试验组亩产量可比对照组增加1071kg，增产率为16.4%。此外，表1可看出施用根茎类蔬菜专用有机复合生物肥可显著提高Vc和可溶性糖含量，分别提高21.5%和11.8%。洋葱品质的好坏主要以Vc、可溶性糖含量多少为指标，它们含量高，则说明洋葱的品质更好。

[0117] 3.结论

[0118] 通过对洋葱的试验发现，施用根茎类蔬菜专用有机复合生物肥能够显著提高洋葱的产量及品质，增产率可达16.4%，显著提高了经济效益。因此，根茎类蔬菜专用有机复合

生物肥可在根茎类蔬菜生产种植中扩大示范面积,并进行大面积推广使用。