



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101463334 B

(45) 授权公告日 2011.07.27

(21) 申请号 200910036618.2

审查员 姚进孝

(22) 申请日 2009.01.13

(73) 专利权人 华南农业大学

地址 510642 广东省广州市天河区五山路
483 号

(72) 发明人 肖相政 廖宗文

(74) 专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限
公司 44102

代理人 林丽明

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

C05F 11/08 (2006.01)

C12R 1/39 (2006.01)

C12R 1/08 (2006.01)

C12R 1/125 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

一种用于制备生物有机肥的发酵液组合物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种用于制备生物有机肥的发酵液组合物,由以下重量百分比的组分组成:枯草芽孢杆菌发酵液 60~70%,短小芽孢杆菌发酵液 15~20%,荧光假单胞菌发酵液 15~20%。本发明还提供了所述发酵液组合物的制备方法,是将枯草芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、荧光假单胞菌分别单独发酵,再将得到的发酵液混合。本产品菌种组合优化,实现了多功能化。所选菌株中不仅具有促生效果,更主要的是对多种植物土传病害具有拮抗效果;本产品中枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌为植物根际促生菌,能激发诱导作物的系统抗性,提高自身免疫力,增强抗病性。

1. 一种用于制备生物有机肥的发酵液组合物,由以下重量百分比的组分组成:枯草芽孢杆菌 A(*Bacillus subtilis*)1.1630、枯草芽孢杆菌 B(*Bacillus subtilis*1.1468)、短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*1.937) 和荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*)GIM1.49 的发酵液按照 30% +30% +20% +20% 的比例混合。

2. 如权利要求 1 所述的发酵液组合物,其特征在于所述发酵液组合物中还加入发酵液总重量 0.1 ~ 0.2% 的稳定剂。

3. 如权利要求 2 所述的组合物,其特征在于所述稳定剂为对羟基苯甲酸甲酯。

4. 权利要求 1 所述发酵液组合物的制备方法,是将枯草芽孢杆菌 A、枯草芽孢杆菌 B、短小芽孢杆菌、荧光假单胞菌分别单独发酵,再将得到的发酵液混合。

5. 权利要求 2 所述发酵液组合物的制备方法,是将枯草芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、荧光假单胞菌分别单独发酵,再将得到的发酵液混合,混合时加入稳定剂,混匀。

6. 权利要求 1 所述发酵液组合物在制备生物有机肥中的应用,是在堆置自然腐熟的有机肥中添加所述发酵液组合物,添加量为每 1000g 有机肥中加入 150 ~ 250mL 发酵液组合物,混匀。

7. 如权利要求 6 所述的应用,其特征在于所述有机肥由收集的枯枝落叶有机废料堆置自然腐熟而成。

一种用于制备生物有机肥的发酵液组合物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于制备生物有机肥的发酵液组合物及其制备方法和应用,属于农业生物技术领域。

背景技术

[0002] 生物有机肥是指特定功能微生物与主要以动植物残体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与有机肥效应的肥料。与普通有机肥相比,生物有机肥生产的技术含量相对较高,除了在腐熟的过程中要加入促进有机物料腐熟、分解的生物菌剂,以实现定向腐熟等目的外,在产品中还需加入具有特定功能的微生物,以提升产品的作用效果。

[0003] 生物有机肥目前得到了快速的发展,在农业部登记获得产品登记证的生产企业 120 多家,年产量 200 万吨以上,已具备一定的生产规模,正在成为农资市场的一个新亮点。企业主要利用附近养殖场的畜禽粪便或农作物秸秆等作为原材料,同时也包括一些发酵工业的下角料、生活垃圾等。在发酵工艺方面,多采用槽式堆置发酵法,其它的发酵方法,如平地堆置发酵法、发酵槽发酵法、密封仓式发酵法、塔式发酵法等在生产中也得到了应用。在发酵物料的后处理方面,大多数企业加入功能菌进行复配、定形,产品剂型以粉剂为主,此外,约有三分之一的产品在后处理过程中采用了造粒技术,主要是圆盘造粒技术。

[0004] 微生物菌种是微生物肥料产品的核心,在生产过程中,一般有 2 个环节涉及到微生物的使用,一是腐熟过程中加入促进物料分解、腐熟兼具除臭功能的腐熟菌剂,其多由复合菌系组成,常见菌种有光合细菌、乳酸菌、酵母菌、放线菌、青霉、木霉、根霉等;二是在物料腐熟后加入的功能菌,一般以固氮菌、溶磷菌、硅酸盐细菌、乳酸菌、假单胞菌、芽胞杆菌、放线菌等为主,在产品中发挥特定的肥料效应。

[0005] 生物有机肥集生物肥和有机肥的优点于一体,既有利于农产品增产增收,又可培肥土壤、改善土壤微生态系统、减少无机肥料用量,改善农产品品质。从整个农业产业及肥料市场发展状况来看,生物有机肥确实应成为农业用肥的一个发展方向。但此类产品目前尚处于市场推广阶段,从产品的生产到田间应用的各个环节上还存在许多问题,尤其在产品技术含量上,微生物是产品的技术核心,菌种的筛选、复配等对于生物有机复合肥作用极为重要,而目前的产品相当一部分都存在菌种功能单一、产品微生物含量低等缺点,达不到产品质量要求。

发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题是弥补已有技术的不足,目的在于提供一种用于制备生物有机肥的、对多种植物土传病害具有拮抗效果的、能激发诱导作物的系统抗性提高自身免疫力、增强抗病性的发酵液组合物。

[0007] 本发明的另一目的是提供上述发酵液组合物的制备方法。

[0008] 本发明还有一个目的是提供上述发酵液组合物在制备生物有机肥中的应用。

[0009] 本发明通过以下技术方案实现上述目的：

[0010] 一种用于制备生物有机肥的发酵液组合物，由以下重量百分比的组分组成：枯草芽孢杆菌发酵液 60 ~ 70%，短小芽孢杆菌发酵液 15 ~ 20%，荧光假单胞菌发酵液 15 ~ 20%。

[0011] 所述枯草芽孢杆菌发酵液为一株枯草芽孢杆菌发酵液或两株不同的枯草芽孢杆菌发酵液的混合物；所述两株枯草芽孢杆菌发酵液优选等比例混合。

[0012] 本发明所述发酵液组合物中还可加入稳定剂，稳定剂优选对羟基苯甲酸甲酯；所述稳定剂的用量为发酵液组合物总重量的 0.1 ~ 0.2%。

[0013] 上述发酵组合物的制备方法是将枯草芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、荧光假单胞菌分别单独发酵，再将得到的发酵液混合，混合时可加入稳定剂。发酵终点时枯草芽孢杆菌 85% 以上形成芽孢，活菌计数 $\geq 5 \times 10^8$ cfu/mL，短小芽孢杆菌 85% 以上形成芽孢，活菌计数 $\geq 1 \times 10^9$ cfu/mL，荧光假单胞菌发酵活菌计数 $\geq 1 \times 10^9$ cfu/mL。

[0014] 本发明还提供上述发酵液组合物在制备生物有机肥中的应用，是在堆置自然腐熟的有机肥中添加所述发酵液组合物，添加量为每 1000g 有机肥中加入 150 ~ 250mL 发酵液组合物，混匀。混匀后的产品直接装袋或做成颗粒生物有机肥。

[0015] 所述有机肥由收集的枯枝落叶有机废料堆置自然腐熟而成，腐熟后粉碎过 1 ~ 2mm 筛，其含水量小于 20%，有机质含量大于 30%，总养分 N+P₂O₅+K₂O% 大于 4%。

[0016] 本发明与现有技术相比，具有如下优点和有益效果：

[0017] 1) 本产品菌种组合优化，实现了多功能化。所选菌株中不仅具有促生（肥料）效果，更主要的是对多种植物土传病害具有拮抗效果；

[0018] 2) 本产品中枯草芽孢杆菌 A、荧光假单胞菌为植物根际促生菌（PGPR），能激发诱导作物的系统抗性，提高自身免疫力，增强抗病性；

[0019] 3) 本产品制备方法中通过改善发酵工艺，提高了各配伍菌株的发酵水平，使产品中有效菌数大大提高，从而保证了应用过程中产品促生、拮抗效果的发挥，由于产品中有效菌数量的提高，保证了制得的化肥产品在与土著微生物的竞争中取得优势，有效占据生态位点；同时活菌数的增加保证了商品有效期内的产品质量；

[0020] 4) 试验证明，应用本产品制得的化肥对番茄青枯病、节瓜枯萎病、辣椒青枯病、香蕉枯萎病等多种土传病害具有很好的防治效果，并促进作物产量增加；

[0021] 5) 应用本产品制得的化肥产品在其生产过程中充分利用了枯枝落叶等生物质废弃物资源，大大提高了资源的利用率；

[0022] 6) 本发明产品中稳定剂的添加还能进一步保证有效期内的功能菌含量。

具体实施方式

[0023] 以下通过具体的实施例进一步说明本发明的技术方案。

[0024] 实施例 1

[0025] 用一株与相关菌株无拮抗作用的枯草芽孢杆菌 A 单独发酵，其发酵液以 70% 的比例与短小芽孢杆菌发酵液 15%、荧光假单胞菌发酵液 15% 混合，制得发酵液组合物，在备好的有机肥中按 150 ~ 250mL 发酵液组合物 / 1000g 有机肥的比例充分吸附混匀，制成功能

生物有机肥。

[0026] 本实施例所得功能生物有机肥对多种植物土传病害具有拮抗和促生效果。

[0027] 实施例 2

[0028] 1、功能菌单独发酵

[0029] 枯草芽孢杆菌 A(*Bacillus subtilis*)1.1630、枯草芽孢杆菌 B(*Bacillus subtilis*1.1468)、短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*1.937) 和荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*)GIM1.49 均购自广东省微生物研究所微生物菌种保藏中心。

[0030] 各菌株的发酵条件如下：

[0031] 1) 枯草芽孢杆菌 A(枯草芽孢杆菌 1.1630)

[0032] 发酵培养基：淀粉 0.5% 蔗糖 0.8% 豆饼粉 0.3% $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.2% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.06% 硫酸铵 0.04% 碳酸钙 0.2% 酵母膏 0.03%

[0033] 培养条件：pH 7.0 ~ 7.5 温度 30 ~ 31℃ 时间 30 ~ 36h

[0034] 2) 枯草芽孢杆菌 B(枯草芽孢杆菌 1.1468)

[0035] 发酵培养基：淀粉 0.5% 蔗糖 0.3% 豆饼粉 0.1% $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.1% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1% 硫酸铵 0.08% 碳酸钙 0.2% 酵母膏 0.1%

[0036] 培养条件：pH 7.2 ~ 7.5 温度 30 ~ 34℃ 时间 30 ~ 36h

[0037] 3) 短小芽孢杆菌 1.937

[0038] 发酵培养基：淀粉 0.4% 蔗糖 0.2% 豆饼粉 0.1% $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.1% $KH_2PO_4 \cdot 12H_2O$ 0.1% 碳酸钙 0.1% 酵母膏 0.04% 硫酸亚铁 0.002% 硫酸锰 0.002%

[0039] 培养条件：pH 7.0 ~ 7.5 温度 30 ~ 32℃ 时间 24 ~ 28h

[0040] 4) 荧光假单胞菌 GIM1.49

[0041] 发酵培养基：牛肉膏 0.5% 蛋白胨 1% 氯化钠 0.5%

[0042] 培养条件：pH 7.0 ~ 7.2 温度 25 ~ 30℃ 时间 24 ~ 28h

[0043] 所选四种功能菌株经拮抗实验证明相互之间无拮抗作用。

[0044] 经上述发酵，发酵终点时两株枯草芽孢杆菌 85% 以上形成芽孢，活菌计数为 $\geq 5 \times 10^8$ cfu/mL；短小芽孢杆菌 85% 以上形成芽孢，活菌计数为 $\geq 1 \times 10^9$ cfu/mL；荧光假单胞菌活菌计数为 $\geq 1 \times 10^9$ cfu/mL。

[0045] 2、按 30% + 30% + 20% + 20% 比例混合枯草芽孢杆菌 A、枯草芽孢杆菌 B、短小芽孢杆菌和荧光假单胞菌的单独发酵液；同时加入发酵液质量 0.2% 的稳定剂对羟基苯甲酸甲酯。

[0046] 3、枯枝落叶堆置自然腐熟后，粉碎过 2mm 筛，其含水量为 10 ~ 20%，有机质含量为 $\geq 30\%$ ，总养分 ($N+P_2O_5+K_2O$) % 大于 4.0%；

[0047] 4、将发酵液组合物与备好的有机肥按 20% 吸附，充分混合均匀，吸附后的产品直接装袋或造粒做成颗粒生物有机肥。

[0048] 实施例 3

[0049] 实施例 2 制得的有机肥用于以下实验：

[0050] 1、功能生物有机肥在辣椒上的应用效果

[0051] 本试验中辣椒为大田温室栽培，多年发病。

[0052] 肥料用量及用法：100kg/亩，辣椒移苗时做基肥施用（折算为 20g/株）。

[0053] 结果:未做处理的对照辣椒大部分枯萎,没有产量,而施用了生物有机肥的处理基本生长正常,未见发病。

[0054] 2、功能生物有机肥在盆栽番茄上的应用效果:

[0055] 本试验为网室盆栽,盆栽所选土壤为常年发病菜园土。

[0056] 肥料用量及用法:14.3g/公斤土,移苗时基施。

[0057] 结果:1) 接种青枯菌 40 天后,未施生物有机肥的对照全部发病枯萎,而处理仅有个别出现轻微发病。

[0058] 2) 发病期取样检测土壤中病原菌的数量,对照为 2.5×10^7 cfu/克干土,而施肥的处理仅为 3.7×10^6 cfu/克干土,差异极为明显,说明施肥后土壤中病原菌数量明显降低,从而发病率降低。

[0059] 3、功能生物有机肥对节瓜枯萎病的防治效果

[0060] 本试验为大田应用试验,地点为海南儋州农场。

[0061] 肥料用量及用法:功能生物有机肥做基肥施用,设两个不同用量,分别为 100g/株、150g/株,加上对照共三个处理,每处理三次重复,每重复选 10 株为一小区。

[0062] 结果:两种不同用量对节瓜枯萎病均有防治效果,见表 1,在此试验中每株用量为 150g 时效果要好于 100g/株。

[0063] 表 1 功能生物有机肥对节瓜枯萎病的防治效果

[0064]

处 理	病情指数	防治效果
对照	0.450a	
100g/株	0.216b	51.1%
150g/株	0.198b	60.0%

[0065] 在应用本发明的方法时还应当注意以下事项:

[0066] 在用于吸附的有机肥水分含量较低的情况下,可采用发酵液组合物与腐熟有机肥按 25% 吸附,而有机肥水分含量较高的情况下,一般按 15% 吸附;而发酵液组合物的组成主要是视应用情况而定,如果应用发病比较严重的地块,则可适当增加两株枯草芽孢杆菌的比例,各用 35%,而短小芽孢杆菌和荧光假单胞菌各用 15%,否则,一般按 30% + 30% + 20% + 20% 优选方案混合。