

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C05F 11/08 (2006.01)
C05G 1/00 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200410050683.8

[45] 授权公告日 2006 年 7 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 1262519C

[22] 申请日 2004.10.26

[21] 申请号 200410050683.8

[71] 专利权人 大连华夏生物产业有限公司

地址 116600 辽宁省大连市开发区东北七街 18 号

[72] 发明人 王玉兰 刘 丹

审查员 余爱丽

[74] 专利代理机构 沈阳科威专利代理有限责任公司

代理人 张述学

权利要求书 2 页 说明书 10 页

[54] 发明名称

双效复合微生物肥料的工业化生产方法

[57] 摘要

一种双效复合微生物肥料的工业化生产方法，先将胶质芽孢杆菌菌株培养活化，通过培养基进行一~三级发酵培养，将菌液用风化煤粉末搅拌吸附，成胶质芽孢杆菌菌剂。将链霉菌菌株进行培养活化，通过培养基进行一~三级发酵培养，发酵液与风化煤粉末搅拌吸附，成链霉菌菌剂。将风化煤、骨粉、磷酸一铵、尿素、硫酸钾、酸锌、硼砂、硫酸镁、硫酸锰、硫酸铜、硫酸亚铁、钼酸钠、胶质芽孢杆菌菌剂菌剂、链霉菌菌剂按比例配制。本发明应用生物工程技术将具有解钾、解磷、固氮功能和具有抑制多种病原真菌功能的微生物菌种通过生物发酵制成菌剂，以优质有机质为载体合成产品，优点是速效与长效养分相结合，一次性施肥，既可满足农作物对营养的需求，又防止或减少了病害的发生，增产效果显著，提高了农产品的品质。

1、一种双效复合微生物肥料的工业化生产方法，其特征是：

a. 胶质芽孢杆菌菌剂的制备：先将胶质芽孢杆菌原始菌株（*Bacillus mucilaginosus* Krassilnikov Accc10012）接种至无氮培养基进行活化，27℃—29℃恒温培养3—4天，待菌苔长满后，即成生产菌种，然后将该菌种按培养基投料量5%的重量比例接种于一级种子罐中进行一级发酵培养，罐体容积为100立升，培养基用改良阿须贝培养基，24小时后压种至二级种子罐中进行二级发酵培养，罐体容积为1000立升，培养基同上，再经24小时后压种至三级发酵罐中进行三级发酵，罐体容积为10000立升，培养基用淀粉铵，PH值为7.2-7.4；36小时后终止发酵，将菌液用风化煤粉末按1：5的重量比例搅拌吸附，即成胶质芽孢杆菌菌剂；

b. 链霉菌菌剂的制备：将链霉菌原始菌株（*Streptomyces aureus* Waksmanet Gurtis CFcc3010）接种至斜面培养基进行活化培养，28℃—29℃恒温培养5-6天，待孢子长满后，即成生产菌种；然后将该菌种按培养基投料量5%的重量比例接种于一级种子罐中进行一级发酵，罐体容积为100立升；48小时后将菌种压种至二级种子罐中进行二级发酵，罐体容积为1000立升；72小时后压种至三级发酵罐中进行三级发酵，罐体容积为10000立升；上述一、二、三级发酵通用发酵培养基；48小时后显微镜下可见菌丝断裂，菌体自溶，且检测多养霉素的效价达到1400—1500效价单位时，即可终止发酵；将发酵液经板框过滤，其滤液与风化煤粉末按1：6的重量比例，搅拌吸附，即成链霉菌菌剂；

c. 双效复合微生物肥料的制备，按下列成分重量比例配制：

风化煤	25—30%.
-----	---------

骨粉	8—10%
磷酸一铵	8—10%
尿素	20—24%
硫酸钾	12—15%
硫酸锌	0.3—0.5%
硼砂	0.3—0.5%
硫酸镁	0.03—0.05%
硫酸锰	0.03—0.05%
硫酸铜	0.003—0.005%
硫酸亚铁	0.003—0.005%
钼酸钠	0.003—0.005%
胶质芽孢杆菌菌剂	3—5%
链霉菌菌剂	3—5%

其中胶质芽孢杆菌菌剂、链霉菌菌剂分别单独包装，其它成分混合包装。

双效复合微生物肥料的工业化生产方法

技术领域

本发明涉及一种微生物复合肥料，特别是一种可用来作为农作物生长过程养分供应及病害的防治的肥药合一型双效复合微生物肥料的工业化生产方法。

技术背景

已知现代农业生产中常用的肥料有化学肥料、有机肥料和生物肥料三大类。化学肥料大都是工业产品，速效养分含量较高，应用在农作物上，见效快，由于成分比较单一，肥效又短，易造成农作物养分缺乏和后期脱肥而导致减产，同时，随着全球经济的发展和社会的进步，人们对生活质量和食品品质的要求越来越高，渴望得到口感好、富营养的食品，追求纯天然、无污染的健康食品。但农业的过度开发，尤其是长期偏施单施化肥，导致土壤质量下降，土壤退化严重，最终影响优质农产品的生产。有机肥料和生物肥料中含有丰富的在机质和有益土壤微生物，施入土壤后，能够改良土壤，培肥地力，提高土壤的供肥能力及提高土壤的缓冲能力，但有机肥料和生物肥料的总养分含量较低，肥效缓慢，使农作物生长初期养分供应不足而导致减产。已知农业生产中用作防治病害的农药多为化学合成，虽然有一定的效果，但使用后农产品中农药残留量超标，危害人体健康，且对土壤、水质及环境人类均造成不同程度的污染。市场上期待提供一种肥药合一型的生物制剂产品，即满足农作物生长期所需养分的供应，又能防治病害，且无毒害和污染。

发明内容

本发明的目的是提供一种双效复合微生物肥料的工业化生产方法，产品无

公害且具有养份供应及病害防治双重功效，使用方便。

为达到上述目的，本发明根据胶质芽孢杆菌的解钾、解磷、固氮活性和链霉菌代谢产物——多氧霉素的拮抗作用，通过生物发酵，以优质有机质作为发酵菌液的载体，在根据农作物生长过程对养分的需求，科学合理配制而成。

本发明提供的生产方法如下：

1. 胶质芽孢杆菌菌剂（A 菌剂）的制备：先将原始保藏的菌株，接种至无氮培养基进行活化，27℃—29℃恒温培养 3—4 天，待菌苔长满后，即成生产菌种，然后将该菌种按培养基投料量 5% 的重量比例接种于一级种子罐中进行一级发酵培养，罐体容积为 100 立升，培养基用改良阿须贝培养基，24 小时后压种至二级种子罐中进行二级发酵培养，罐体容积为 1000 立升，培养基同上，再经 24 小时后压种至三级发酵罐中进行三级发酵，罐体容积为 10000 立升，培养基用淀粉铵，PH 值为 7.2-7.4；36 小时后终止发酵，将菌液用风化煤粉末按 1：5 的重量比例搅拌吸附，即成胶质芽孢杆菌菌剂。

2. 链霉菌菌剂（B 菌剂）的制备：将原始保藏的菌株，接种至斜面培养基进行活化培养，28℃—29℃恒温培养 5-6 天，待孢子长满后，即成生产菌种；然后将该菌种按培养基投料量 5% 的重量比例接种于一级种子罐中进行一级发酵，罐体容积为 100 立升；48 小时后将菌种压种至二级种子罐中进行二级发酵，罐体容积为 1000 立升；72 小时后压种至三级发酵罐中进行三级发酵，罐体容积为 10000 立升；上述一、二、三级发酵通用发酵培养基；48 小时后显微镜下可见菌丝断裂，菌体自溶，且检测多养霉素的效价达到 1400—1500 效价单位时，即可终止发酵；将发酵液经板框过滤，其滤液与风化煤粉末按 1：6 的重量比例，搅拌吸附，即成链霉菌菌剂。

3. 双效复合微生物肥料的制备，按下列成分重量比例配制：

风化煤	25—30%
-----	--------

骨粉	8—10%
磷酸一铵	8—10%
尿素	20—24%
硫酸钾	12—15%
硫酸锌	0.3—0.5%
硼砂	0.3—0.5%
硫酸镁	0.03—0.05%
硫酸锰	0.03—0.05%
硫酸铜	0.003—0.005%
硫酸亚铁	0.003—0.005%
钼酸钠	0.003—0.005%
A 菌剂	3—5%
B 菌剂	3—5%

其中 A 菌剂、B 菌剂分别单独包装，其它成分混合包装。

本发明的优点是：应用生物工程技术将具有解钾、解磷、固氮功能的胶质芽孢杆菌和具有抑制多种病原真菌功能的链霉菌通过生物发酵制成菌剂，以优质有机质为载体合成本发明产品，有效促进土壤中营养元素的转化，提高作物对营养的吸收利用，其代谢产物还具有刺激作物生长作用，胶质芽孢杆菌和链霉菌在土壤中大量繁殖，形成有益菌群，创造了良好的根际生态环境，能有效改善土壤的结构状况，培肥地力，使土壤保持良好的水、肥、气、热条件，能使对作物有害的病原菌得到抑制，从而防止和减少了病害的发生。同时，产品中链霉菌发酵的代谢产物——多氧霉素是一种广谱性抗菌素，对多数病原真菌均有较强的抑制作用，本发明特有的防治病害功能，是目前农作物广泛应用的各类肥料所不具备的，且对土壤、水质及环境无毒害、无残留、无污染，

使自然环境和人们的健康得到保证。本发明产品速效与长效养分相结合，做到一次性施肥，即可满足农作物整个生长期对营养的需求，又防止或减少了病害的发生，不但使用方便，同时还能降低投入成本，同时增产效果显著，增产幅度可达20—30%，而且能提高农产品的品质。

具体实施方式

具体生产方法如下：

原始菌种的来源：胶质芽孢杆菌原始菌种（*Bacillus mucilaginosus* Krassilnikov Acccl0012）和链霉菌原始菌种（*Streptomyces aureus* Waksmanet Gurtis CFcc3010）为北京微生物研究所菌种保藏中心保藏，经诱变筛选后得高产菌株。

1、胶质芽孢杆菌剂（A 菌剂）生产菌种的制备：将原始保藏的胶质芽孢杆菌菌株，接种至无氮培养基上，27℃—29℃恒温培养3—4天，待菌苔长满后，即可成生产菌种。

无氮培养基成分重量比例：

蔗糖	10 克
磷酸氢二钾	0.2 克
硫酸镁	0.2 克
碳酸钠	0.2 克
硫酸钾	0.1 克
硫酸锌	0.05 克
三氯化铁	0.05 克
碳酸钙	5 克
琼脂	20 克
水	1000ml

PH 7.2—7.4

2、菌种的发酵生产：

一级种子发酵：将上述培养好的菌种，接种于一级种子罐中，进行一级发酵，罐体容积为 100 立升。发酵条件：培养基投料量 70 立升，采用改良阿须贝培养基，接种量按培养基投料重量比例的 5%，发酵温度 28 ℃，搅拌转数 240—250 转/分。通气量 1.2 立方米/小时，发酵时间 24 小时。

二级种子发酵：将一级发酵完毕的菌液，通过压种管接种至二级种子罐中，进行二级发酵，罐体容积为 1000 立升。发酵条件：培养基投料量 700 立升，采用改良阿须贝培养基，发酵温度 28 ℃，搅拌转数 240—250 转/分。通气量 12 立方米/小时，发酵时间 24 小时。

三级发酵：将二级发酵完毕的菌液，通过压种管接种至三级发酵罐中，进行三级发酵，罐体容积为 10000 立升。发酵条件：培养基投料量 7000 立升，采用淀粉铵培养基，发酵温度 28 ℃，搅拌转数 240—250 转/分。通气量 120 立方米/小时，发酵时间 36 小时。

改良阿须贝培养基成分重量比例：

蔗糖	1%
磷酸氢二钾	0.02%
硫酸镁	0.02%
碳酸钠	0.02%
硫酸钙	0.01%
碳酸钙	0.5%
硫酸钾	0.0%
硫酸锌	0.05%
三氯化铁	0.05%

PH 7.2—7.4

淀粉铵培养基成分重量比例：

蔗糖： 0.2%

淀粉 0.5%

磷酸氢二钾 0.2%

硫酸镁 0.05%

碳酸钠 0.02%

硫酸铵 0.1%

硫酸锌 0.05%

碳酸钙 0.1%

酵母膏 0.02%

蛋白胨 0.01%

三氯化铁 0.001%

PH 7.2—7.4

3、胶质芽孢杆菌菌剂（A 菌剂）的制备：

将终止发酵的菌液由出料口排出，与风化煤粉末按 1：5 的重量比例搅拌吸附，即成胶质芽孢杆菌菌剂。

4、链霉菌菌种的制备：将原始保藏的链霉菌菌株，接种至斜面培养基上，28℃—29℃恒温培养 5—6 天，待孢子长满后，接种至发酵培养基中，28℃振荡培养 72 小时，经镜检无杂菌，且菌体丰满，菌丝粗壮，即可作发酵菌种。

斜面培养基成分重量比例：

硝酸钾 0.1%

磷酸氢二钾 0.05%

硫酸镁 0.05%

氯化钠	0.05%
淀粉	2%
硫酸亚铁	0.01%
PH	7.0—7.2

发酵培养基成分重量比例：

玉米粉	2%
豆粉	2%
饴糖	1%
酵母膏	0.5%
磷酸氢二钾	0.2%
硫酸镁	0.05%
氯化钠	0.2%
硫酸锌	0.5%
碳酸钙	0.2%
硫酸铜	0.005%
硫酸锰	0.005%
硫酸亚铁	0.005%
蛋白胨	0.01%
PH	7.0—7.2

5、链霉菌菌种的发酵生产：

一级发酵：将上述培养好的液体菌种，接种于一级种子罐中，进行一级发酵，罐体容积为 100 立升。发酵条件：投料量 70 立升，采用发酵培养基，接种量按培养基投料重量比例的 5%，发酵温度 8℃，搅拌转数 220—230 转/分，通气量 1.85 立方米/小时，发酵时间 24—36 小时。

二级发酵：将一级发酵完毕的菌液通过压种管接种至二级发酵罐中，罐体容积为 1000 立升。发酵条件：投料量 700 立升，采用发酵培养基，发酵温度 28℃，搅拌转数 220—230 转/分，通气量 18.5 立方米/小时，发酵时间 24—36 小时。

三级发酵：将二级发酵完毕的菌液，经过镜检无杂菌时，通过压种管接种至三级种子罐中，进行三级发酵，罐体容积为 10000 立升，搅拌转数 220—230 转/分，通气量 185 立方米/小时，发酵时间 72—80 小时。当测定金色链霉菌的代谢产物，即多氧霉素的效价达到 1400—1500 单位，终止发酵。

6、链霉菌菌剂（B 菌剂）的制备：将终止发酵的菌液由出料口排出，与风化煤粉末按 1：6 的重量比例搅拌吸附，即成链霉菌菌剂。

7、风化煤预处理：

将购进的风化煤粉（腐殖酸含量 40—50%、细度为 40 目）与碳酸氢铵按 5：1 的重量比例搅拌混合，边搅拌边加水，加水量为 10%，混均后封闭进行氨化反应，温度为 25℃，需 10 天，冬季需 15—20 天即可。

8、骨粉的预处理：

将购进的骨粉（细度为 40 目）与 25%稀硫酸按 1：0.8 的重量比例进行搅拌混合，混均后经 24 小时酸化反应，速效磷含量可达 8%—10%。

9、双效复合微生物肥料按下列成分重量比例配制：

风化煤	25—30%
骨粉	8—10%
磷酸一铵	8—10%
尿素	20—24%
硫酸钾	12—15%

硫酸锌	0.3—0.5%
硼砂	0.3—0.5%
硫酸镁	0.03— 0.05%
硫酸锰	0.03— 0.05%
硫酸铜	0.003— 0.005%
硫酸亚铁	0.003— 0.005%
钼酸钠	0.003— 0.005%
A 菌剂	5%
B 菌剂	5%

其中 A 菌剂、B 菌剂分别单独包装，其它成分混合包装。

10、包装：鉴于本发明中两种功能菌剂各自不同的功能特点，以及施用方法的灵活性，尤其是确保其有效活性，故采用 A、B 菌剂单独包装形式，现用现混。总量共占 10%，其中 A 菌剂 5%，B 菌剂 5%。

本发明产品的主要技术指标

有效氮含量	≥12%
有效磷含量	≥6%
有效钾含量	≥7%
有机质含量	≥40%
微生物活菌数	≥500 万个/克
链霉菌效价	≥700 效价单位

本发明产品的使用方法：施用前 A、B 现用现混，混合时加入适量水则会更加均匀。

- 1、可做底肥，施用量 20—30 千克/亩，整地时施入土壤中。
- 2、可做追肥，作物整个生长期追施 1—2 次，每次施用 15—20 千克/

亩。

3、可做冲施肥，随水冲施，在作物生长期，10—15 冲施一次，每次施用 5—10 千克/亩。

4、针对重茬病害及通过土壤传染的真菌类病害，做底肥施用，施用量 20—25 千克/亩。

5、针对通过空气传染的真菌类病害，可将 B 加 10 倍水稀释后直接喷施在植株或果实上。

本发明产品适用作物及防病范围：

1、应用作物：本发明产品中的养分构成可以实现配方施肥，即根据不同的土壤性质、缺素情况及不同作物的需养特性调整养分配比，能做到合理施肥的同时又减少浪费，因此本发明产品针对各种大田作物、各种蔬菜瓜果类作物、各种果树类作物以及各种类型的土壤，分别研制最适合的且效果最佳的系列专用产品。

2、防病范围：本发明产品中链霉菌发酵的代谢产物——多氧霉素是一种广谱性抗菌素，对鞭毛菌、子囊菌和半知菌等大多数病原真菌均有较强的抑制作用，对蔬菜立枯病、水稻立枯病、纹枯病、番茄早疫病、晚疫病、灰霉病、叶霉病、小麦白粉病、花卉白粉病、韭菜白粉病、茄子黄萎病、黄瓜枯萎病、西瓜蔓枯病、甜菜立枯病、大豆根腐病、灰斑病、烟草赤星病、黑霉病、黑茎病、果树腐烂病、白粉病、棉花立枯病、人参黑斑病、疫病、茶叶黑斑病等真菌类病害，防治率达 70%以上，其中，对各种作物的白粉病、立枯病的防治率达 90—95%以上。