

文章编号:1001-1498(2004)04-0465-07

竹林生物肥研制、施用方法及肥效研究

吴晓丽, 顾小平, 汪阳东

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

摘要:对竹类植物根际有益微生物和根际联合固氮研究概况进行了总结,并对竹林生物肥的研制、施用和肥效进行了初步报道。结果表明:以竹子联合固氮理论为基础,以筛选自竹类植物根际的联合固氮菌和根际促生菌为主要功能菌研制的竹林生物肥液体菌剂和竹林生物有机肥,具有显著促进竹子生长、提高苗木成活率、提高竹笋产量和改良土壤的作用。麻竹组培苗液体菌剂沾根,提高苗木生物量达 203.5%~220.8%,提高幼苗成活率达 56.2%;液体菌剂和麸糠拌和堆制后沟施,增加竹笋产量达 25.4%;雷竹笋用林施用竹林生物有机肥不仅显著提高母竹出笋和幼笋成竹数,而且土壤微生物量提高 1~2 个数量级。此项研究初步建立了配套的笋用竹林生物肥施用技术,尤其是在竹林生物有机肥的研制中,形成了一套化学和生物方法结合的秸秆降解和促腐技术,不仅具有显著的肥效,且具改良土壤和保护环境的作用。

关键词:竹林生物肥;施用方法;肥效

中图分类号:S795 **文献标识码:**A

竹子广泛分布于我国热带和亚热带地区,据统计我国现有竹林面积约 720 万 hm^2 ,其中人工经营竹林面积达 420 万 hm^2 ^[1]。为了增加产量,目前竹林使用化肥非常普遍,一些地区长期施用单一 N 素化肥,使竹林土壤有机质含量逐年下降,团粒结构破坏,地力衰退,同时山地施用化肥更易引起肥料和水土流失,造成水系从源头开始的污染。为改变竹林培育越来越依赖化学肥料的经营模式,从 1994 年开始,本项目组成员开始商讨如何将农业上的生物固氮研究引入到竹林生态系统的问题。受农业上禾本科作物根际联合固氮研究的启示^[2],提出同属禾本科 (Gramineae) 的竹类植物,根际极有可能也存在联合固 N 特性的设想,先后获得国家和浙江省多个项目的支持,开展竹类植物根际联合固氮基础研究和生物肥料研制,并取得了一些有价值的研究成果。主要研究成果如下^[3~7]:

(1) 用多种方法对多种竹类植物根系固氮酶活性进行调查测定,各种测定方法均表明,竹子根系具有较高的固氮酶活性。

(2) 选择分布较广、具有一定经济价值和有代表性的麻竹 (*Dendrocalamus latiflorus* Munro)、绿竹 (*Dendrocalamopsis oldhami* (Munro) Keng f.)、青皮竹 (*Bambusa textilis* McClure)、吊丝球竹 (*Dendrocalamopsis beecheyana* (Munro) Keng f.)、粉丹竹 (*Bambusa chungii* McClure)、马甲竹 (*Bambusa tulda* Roxb) 等丛生竹种进行调查,搞清了热带及亚热带地区分布的丛生竹根系固氮酶活力及

收稿日期:2003-01-07

基金项目:国家“863”项目,编号 2003AA241153;国家自然科学基金项目;国家和浙江省农业科技成果转化资金项目,编号 03EFN213300116;浙江省自然科学基金项目,编号 2003D70091

作者简介:吴晓丽(1959—),女,浙江东阳人,副研究员。

其与北亚热带地区分布的散生型竹种(主要是毛竹(*Phyllostachys heterocyclus* var. *pubescens* (Maze) Ohwi)、浙江淡竹(*Phyllostachys meyeri* McClure)、雷竹(*Phyllostachys praecox* C.D. Chu et C.S. Chao)等竹种)之间的差异;联合固氮菌与宿主植物的关系以及生态环境如:温度、湿度、土壤有机物、土壤通气状况、不同培育管理措施等对竹种根系固氮酶活力、固氮菌数量等的影响。

(3)从多种竹类植物根际分离了一批具较高固氮酶活性的菌株,就其中的主要菌株作了初步的属种鉴定。

(4)用自竹类植物根际分离筛选的联合固氮菌对毛竹实生苗和麻竹组培苗进行回接试验,结果显示:接种联合固氮菌可显著提高竹苗成活率、促进苗木生长、增加植株含氮量,尤其对竹株根系生长促进作用最为明显。

(5)大量研究证实,目前自竹类植物根际分离筛选到的多个联合固氮菌株除具联合固氮作用外,还具有分泌植物生长激素,刺激根系生长等其它方面的作用,因此,这些菌株实际上也可以称为竹子根际促生菌(PGPR)。

以竹子联合固氮理论为基础,以筛选自竹类植物根际的联合固氮菌和根际促生菌为主要功能菌研制了竹林生物肥,包括生物肥液体菌剂及生物有机肥。在此对竹林生物肥的研制、施用和肥效进行初步报道。

1 材料与方法

1.1 竹林生物肥研制方法

1.1.1 菌种 用于竹林生物肥研制的菌种主要是自竹根际分离的2[#]菌(多粘芽孢杆菌(*Bacillus polymyxa* Mace)),12[#]菌(地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis* Chester)),和7[#]菌(肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae* (Schroeter) Trevisan))。

1.1.2 液体菌剂制备 上述菌种经固体斜面活化培养,待菌体丰满后分别接入250 mL三角瓶进行摇床培养,再分别接入5 L发酵罐培养,然后将3个菌种的3种发酵液等体积混合。

根据文献资料选择多个培养基配方进行比较,下列培养基和培养条件可使上述固氮菌在20~30 h内增殖达 $18 \sim 20 \times 10^8$ 个 mL^{-1} ,达到农业部微生物肥料液体菌剂产品标准,并且原料易得价廉。

培养基配方:葡萄糖 5.0 g L^{-1} ,蔗糖 5.0 g L^{-1} ,玉米粉 10.0 g L^{-1} , K_2SO_4 1.5 g L^{-1} , KH_2PO_4 0.4 g L^{-1} , $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g L^{-1} , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.0 g L^{-1} , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g L^{-1} , NaCl 0.1 g L^{-1} , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.02 g L^{-1} , $\text{FeCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g L^{-1} , $\text{Na}_2\text{MnO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.005 g L^{-1} ,蛋白胨 1.0 g L^{-1} ,酵母浸膏 0.8 g L^{-1} 。

发酵条件:培养温度 $30 \sim 35$,pH值 $6.0 \sim 7.5$,搅拌速度 $150 \sim 200 \text{ r min}^{-1}$,通气量 $0.5 \sim 1.0 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ (基质) min^{-1} ,培养时间 $20 \sim 30 \text{ h}$ 。芽孢杆菌培养后期提高温度至 40 ,促使细菌生长芽孢,芽孢达 $80\% \sim 100\%$ 时放罐。由于本实验室发酵罐体积偏小,大量培养时直接用大型三角瓶进行摇床培养。

1.1.3 竹林生物有机肥制备

1.1.3.1 材料 粉碎的水稻秸秆、工业级 KOH 、工业级浓 H_3PO_4 、绿色木霉(*Trichoderma viride* Persoon ex Fries)、竹林生物肥液体菌剂。

1.1.3.2 方法

(1) 分别配制质量浓度为 $x \text{ g L}^{-1}$ 的 KOH 水溶液和质量浓度为 $y \text{ g L}^{-1}$ 的 H_3PO_4 水溶液以及和磷酸同样浓度的石灰乳液。

(2) 将水稻秸秆粉碎,用上述 KOH 水溶液拌和,含水量以手捏成团但不滴水为度,堆制一段时间后测定其 pH 值,酸性时用石灰乳液,碱性时用磷酸水溶液调节 pH 值至 6.0~7.5 堆制。

(3) 取竹林生物肥液体菌剂 1 000 mL,再将 4 只马铃薯试管培养基培养的绿色木霉孢子用 200 mL 无菌水洗入。

(4) 将混合菌液按 10% 的接种量接入堆制后的秸秆中,30 ℃ 发酵。

(5) 对上述发酵物取样,用乙炔还原-MPN 法进行固氮菌计数,待固氮菌含量大于 0.2×10^8 个 g^{-1} 并且植物材料基本腐熟时结束。

1.2 竹林生物肥施用方法

1.2.1 液体菌剂沾根

(1) 毛竹种子用无菌水在 35 ℃ 培养箱中浸泡 1 d 后,在湿沙中播种,待竹苗长至 5 cm 左右时,连沙一起挖出,用水冲去根部泥沙,将苗木根系在液体菌剂中浸泡 2 min,然后进行盆栽,并以经高温高压灭活的液体菌剂为对照。6 个月后将苗木连根系从盆中倒出,用水冲去泥土,对比植株和根系生长情况,20 个重复。

(2) 从组培试管中选取植株和根系生长基本一致的单株麻竹组培苗,洗去培养基,将苗木根系在液体菌剂中浸泡 2 min,然后进行盆栽,并以经高温高压灭活的液体菌剂为对照,6 个月后进行各项生长指标的对比调查,20 个重复。

1.2.2 液体菌剂和苍糠拌和堆制后沟施 试验地点:富阳市春建乡雷竹林。将前述的液体菌剂用溪水稀释 5 倍,在 50 kg 苍糠中加入 50 L 经稀释后的液体菌剂拌和堆制 1 个星期,于 2000 年 6 月沟施,同时以经高温高压灭活的液体菌剂为对照,设 3 个对比小区,翌年对收获的笋产量进行统计。

1.2.3 竹林生物有机肥的对比施肥试验 试验地点:富阳市春建乡雷竹林。2001 年 7 月围绕新造笋用竹林(2000 年春种植)的竹丛,设空白(CK_1)、液体菌剂、生物有机肥、基质(CK_2) 4 种处理进行对比施肥试验。空白处理为不施任何肥料,液体菌剂处理为每丛浇施 2 L 上述已稀释 5 倍的液体菌剂,生物有机肥处理为每丛施 2 kg 前述的竹林生物有机肥,基质处理为每丛施 2 kg 经高温高压灭活的前述竹林生物有机肥。第 2 年 4 月对出笋情况进行调查,并在竹丛的施肥部位 0~40 cm 土层取土壤样本,每处理 3 个样本,用常规方法对土壤理化和生物学特性进行分析测定。

1.3 土壤样本分析测定方法

土壤有机质含量和土壤全氮量测定采用土壤常规测定方法;土壤中固氮菌数测定用乙炔还原-MPN 法^[8];土壤固氮强度测定用乙炔还原法;土壤细菌、真菌、放线菌数量测定用稀释平板-MPN 法^[9]。

2 结果与肥效分析

2.1 竹林生物肥研制

自竹根际分离的高效联合固氮菌和根际促生菌经前述的液体发酵方法,制备出有效活菌

数 $n = 18 \sim 20 \times 10^8$ 个 mL^{-1} 的液体菌剂。

水稻秸秆经 KOH 处理和发酵后,再接种竹根际高效联合固氮菌和根际促生菌,制备出有
效功能菌含菌数 $n = 0.2 \times 10^8$ 个 g^{-1} 的竹林生物有机肥。

2.2 竹林生物肥肥效分析

2.2.1 液体菌剂沾根对竹子生长的促进作用 毛竹种子发芽后以液体菌剂沾根,结果显示:
经活菌沾根的处理其长势明显优于对照,主要表现在叶色浓绿,苗体健壮,其总干生物量比
对照处理高 18% ~ 30%,初期生物量的增长主要表现在根系生长上。

麻竹组培苗液体菌剂沾根,结果显示:经活菌沾根的处理苗木长势明显优于对照,主要表
现在叶色浓绿,苗体健壮;对成活率调查表明,用活菌沾根后苗木成活率达 87.5%,而对照
组只有 31.3%;植株干生物量活菌接种组平均为 274.6 mg 株⁻¹,对照组仅为 85.6 mg 株⁻¹,增
长率达 220.8%;根系干生物量活菌接种组平均为 138.4 mg 株⁻¹,对照组仅为 45.6 mg 株⁻¹,增
长率达 203.5%。

研究表明,液体菌剂沾根对竹子生长具有明显的促进作用,为竹林生物肥的肥效提供了依
据,尤其是液体菌剂沾根可以提高竹子组培苗的成活率,在以组培苗和种子育苗及造林时具有
确切的应用前景。

2.2.2 液体菌剂和耨糠拌和堆制后沟施的肥效 将液体菌剂和耨糠拌和堆制后沟施,翌年对
收获的竹笋产量进行统计,与对照相比雷竹笋产量从 34.16 t $\cdot \text{hm}^{-2}$ 提高到 42.84 t $\cdot \text{hm}^{-2}$,每公
顷增产 8.68 t,以每千克竹笋 4 元计算,增加产值 34 720 元,增产幅度达 25.4%,投入产出比达
1:10 以上,并且施用生物有机肥后,发现竹苗新生根数量明显增加,笋体大小均匀,品质提高,
2002 年笋产量的统计表明,施用菌剂的地块 2 a 后仍可增产 7.2%。

2.2.3 竹林生物有机肥的对比试验及肥效 2001 年 7 月围绕新造笋用雷竹林的竹丛施肥,设
空白、液体菌剂、生物有机肥、基质 4 个处理。3 个月后观察,施用生物有机肥处理的竹子在叶
色、叶量、长势等方面和对照呈现明显差异,施用生物有机肥处理的竹丛明显优于其它处理。
2002 年 4 月的出笋观察表明,施用生物有机肥竹丛的出笋数和成竹数均明显高于其它处
理;液体菌剂处理的也显示出明显的效果。4 个处理的每株母株的平均发笋数和平均成竹
数的统计结果见表 1。

表 1 施用生物有机肥对竹子出笋和竹笋成竹的影响

项目	生物有机肥	液体菌剂	基质 (CK ₂)	空白 (CK ₁)
母株平均 发笋数/个	5.35	4.03	3.35	3.06
母株平均 成竹数/根	1.86	1.36	1.40	1.24

尤其引人注意的是,施用生物有机肥和液体菌剂处理的竹丛还明显表现出发笋和成竹远
离母株的现象。说明施肥后,不仅增加了竹株的地上部分产量,而且也促进了地下鞭根系统的
生长,为来年的增产奠定了基础。

2.2.4 施用竹林生物肥对竹林土壤理化性质和土壤微生物的作用 施用生物肥后竖年进行
了竹林土壤有机质含量、土壤含氮量、土壤固氮强度、土壤中的固氮菌数量、总微生物数量等项
目的测定,结果显示,各项指标均有明显提高,其中土壤中各种微生物的数量提高 1 至 2 个
数量级(表 2)。

表2 施用生物肥对竹林土壤理化性质和土壤微生物的作用

处理	土壤有机质	土壤全N含量	土壤固N强度/ [nmol(C ₂ H ₄)· h ⁻¹ g ⁻¹]	竹根系固N 酶活性/ [nmol(C ₂ H ₄)· h ⁻¹ g ⁻¹ (鲜根)]	土壤中固 氮菌数量	土壤中 细菌数量	土壤中 真菌数量	土壤中放 线菌数量	
	(g kg ⁻¹)					(个 g ⁻¹)			
液体菌剂 砻糠拌和 堆制沟施	灭活菌剂 (CK)	30.7	3.34	461.7	85.24	2.85 ×10 ⁵	1.45 ×10 ⁸	3.28 ×10 ⁶	1.85 ×10 ⁵
	活菌	32.3	3.58	709.2	136.5	3.10 ×10 ⁶	6.29 ×10 ⁹	3.46 ×10 ⁷	9.50 ×10 ⁷
	(CK ₁)	28.9	3.09	350.1	74.4	6.04 ×10 ⁴	3.02 ×10 ⁸	1.51 ×10 ⁶	9.51 ×10 ⁵
丛施	基质(CK ₂)	33.2	3.37	534.4	106.3	2.85 ×10 ⁵	5.85 ×10 ⁸	3.25 ×10 ⁶	12.35 ×10 ⁵
	生物有机肥	34.7	3.75	862.0	161.1	2.57 ×10 ⁶	3.57 ×10 ⁹	3.06 ×10 ⁷	11.95 ×10 ⁶

3 讨论

用分离自竹根际的联合固氮菌和根际促生菌研制的竹林生物肥,为适地适树的专用生物肥,菌种对竹林土壤环境适应性强,能显著促进竹子生长,具有很好的应用前景。但仍有大量问题需要进一步研究和探讨。

3.1 竹林生物肥液体菌剂

由于根际是联合固氮菌和根际促生菌最适宜生存、繁殖并发挥作用的场所,因此,禾本科农作物联合固氮菌肥的应用主要通过种子包衣或菌剂拌种等方式,使种子和固氮菌密切接触,待种子生根发芽时,固氮菌首先占据根系有利位置,在根际形成优势,和作物行互惠互利的作用。本研究表明,液体菌剂沾根对竹子生长也具有明显的促进作用,为竹林生物肥的肥效提供了依据,尤其是液体菌剂沾根可以提高竹子组培苗的成活率,在以组培苗和种子育苗及造林时具有确切的应用前景。但是由于竹子很少用种子播种,组培苗造林也不普遍,用母竹造林时 also 要求带大土团,再加上竹子属多年生植物,液体菌剂直接浇施,由于土壤的过滤作用,菌种难以接触到根系,或由于生存环境的强烈改变,碳源缺乏等使菌种难以存活,因此目前竹林生物肥液体菌剂的直接应用受到一定限制。

3.2 液体菌剂和砻糠拌和堆制后沟施

为了克服液体菌剂施用时存在的问题,扩大竹林生物肥的应用范围,提高应用效果,本文作者提出竹林施用联合固氮菌肥,首先应设法保证菌种施入土壤后在自生条件下的存活和旺盛繁殖,在此基础上才能使其和土著菌竞争,并使菌种慢慢地向整个根系渗透,并最终占据根际优势位置。鉴于这一理由作者提出以液体菌剂和砻糠拌和堆制后沟施的笋用竹林生物肥施用方法。

南方笋用竹的经营类似蔬菜种植,集约管理程度很高,随着生态农业的发展,是竹林生物肥今后的主要经销市场。砻糠是稻谷碾米后的谷壳,由于砻糠中含有大量的硅、纤维素、木质素等物质,不易分解,孔隙度大,浙江农民常用此物作为笋用竹林的覆盖保温材料,促进竹林提早出笋,增加效益。由于碾米后的砻糠中残留有一定的淀粉甚至米胚等淀粉类和维生素类物质,菌剂和砻糠拌和后被砻糠吸附,固氮菌可以充分利用砻糠中残留的淀粉(经测定所使用的2株生物肥菌种均能利用淀粉)和维生素等物质生存增殖并进行自生固N;又由于所采用的菌种主要为芽孢杆菌,可以抵抗堆制时产生的65℃左右的高温,后期当砻糠逐渐被其它微生物

分解时,仍然可以为固氮菌提供 C 源和其它养分,借助砗糠的微环境将菌种施入土壤后,固氮菌便可以慢慢地向根际扩展促进竹子生长。根据笋用竹林的栽培特点,结合笋用竹林的提早出笋覆盖技术,这一施肥方法有望在有机无公害竹笋培育中推广应用,但目前仍有大量基础问题需要进一步研究,如:菌种在砗糠中存活、增殖的数量及速度,以及固氮菌由砗糠向土壤和根际转移的数量和动态变化规律等。

3.3 竹林生物有机肥

虽然液体菌剂和砗糠拌和堆制后,在一定程度上可以对生物肥功能菌进行吸附增殖,改善菌种生存环境,提高肥效,但这种施肥方式只适于采用覆盖技术的笋用竹林,在其它竹林的应用中仍然受到限制,因此有必要进行竹林生物有机肥研制。

目前一般的生物有机肥大多是将动物粪便等有机物质经发酵和无害化处理后,再混配生物菌制成。考虑到农村植物性废弃物来源广泛,直接还田不易腐烂,肥效低,农民大多将其作为废物烧掉,不仅造成环境污染,同时也将大量的能源物质白白浪费,因此提出以作物秸秆作为竹林生物有机肥有机基质的设想。

经过大量研究和探索,借鉴造纸工业用碱(NaOH)降解木质素的原理^[10,11],试验了用 KOH 处理秸秆,使秸秆快速降解,并强化其中的钾元素,然后接种纤维素分解菌快速发酵,并复合生物肥功能菌研制了竹林生物有机肥。这一研究在秸秆等有机物降解、快速促腐,生产有机肥、生物有机肥、有机钾肥的方法上具独创性,形成了一套化学和生物方法结合的秸秆降解促腐技术。尤其是 KOH 处理植物材料后形成木质素钾,为有机钾,钾被植物吸收后,木质素残留在土壤中可以形成腐殖质改良土壤,避免普通化学钾肥引入 SO_4^{2-} 和 Cl^{-1} 等有害阴离子的弊端^[12~14]。肥料中无有害离子残留,无污染,原材料来源广,工艺简单,成本低,易于生产推广,并可解决植物废弃物的资源利用问题,但是以这一方法生产肥料时,生产工艺中还有很多细节问题有待进一步研究,同时也有很多基础理论问题需要进一步深入探讨。

参考文献:

- [1] 江泽慧. 世界竹藤[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2002. 4~5
- [2] 李久蒂,安千里. 联合固氮研究进展[J]. 植物学通报,1997,14(3):14~21
- [3] 吴晓丽,顾小平. Study on associated nitrogen fixation of bamboo plants rhizosphere[J]. J Bamboo and Rattan, 2003,1(1):23~36
- [4] 顾小平,吴晓丽. 毛竹根际分离的地衣芽孢杆菌的研究[J]. 竹子研究汇刊,1998,1(4):59~63
- [5] 顾小平,吴晓丽. 毛竹根际分离的多粘芽孢杆菌的研究[J]. 林业科学研究,1998,11(4):377~381
- [6] 顾小平,吴晓丽. 接种联合固氮菌对毛竹实生苗生长的影响[J]. 林业科学研究,1999,12(1):7~12
- [7] 顾小平,吴晓丽. 几种丛生竹根际联合固氮研究[J]. 林业科学研究,2001,14(1):28~34
- [8] 顾小平,吴晓丽. 毛竹及浙江淡竹根际联合固氮研究[J]. 林业科学研究,1994,7(6):618~622
- [9] 许光辉,郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京:农业出版社,1986. 91~109
- [10] 杨淑蕙. 植物纤维化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2001. 69~159
- [11] 高洁,汤烈贵. 纤维素科学[M]. 北京:科学出版社,1999. 230~270
- [12] 鲁如坤. 土壤-植物营养学原理和施肥[M]. 北京:化学工业出版社,1998. 209~250
- [13] 王耀,杨永祥. 有机钾肥[P]. 中国专利公报:CN1135469A,1996-11-13
- [14] 张小川. 无氯有机高钾液体复合肥及生产方法[P]. 中国专利公报:CN1261065A,2000-07-26

Manufacture ,Applying and Effects of Bamboo Bio-fertilizers

WU Xiaoli , GU Xiaoping , WANG Yangdong

(Research Institute of Subtropical Forestry ,CAF ,Fuyang 311400 ,Zhejiang , China)

Abstract :In this paper , general research situations about plant growth promoting rhizobacteria and associated nitrogen fixation in bamboo rhizosphere were summarized ;the manufacture ,applying and effect of bamboo bio-fertilizers were reported. It showed that by azotobacteria and PGPR from bamboo rhizosphere ,two kinds of agents of bamboo bio-fertilizers were manufactured , one was liquid agent and another was bio-organic one. A lot of experiments showed that applying bamboo bio-fertilizers could promote growth of bamboo , enhance the survival rate of younglings , increase yield of shoots and improve soil remarkably. Set of applying methods of bamboo bio-fertilizers special for bamboo shoot forests were established. Especially ,in the course of bamboo bio-organic fertilizer study ,a new technology was established utilizing plant wastes to manufacture organic fertilizer , bio-organic fertilizer and organic potash fertilizer. This technology could accelerate decomposition of plant wastes. The fertilizer made by this technology not only had with very good fertility , but also could improve soil and protect environment .

Key words :bamboo bio-fertilizer ;applying methods ;fertilizer effects