

豆科綠肥根瘤菌劑的製造與效能

賈 醉 公

(湖南省農業試驗總場)

1952年冬，湖南省農業試驗總場土壤肥料系開始試製豆科綠肥——紫云英和苕子——的根瘤菌劑。這項試驗最初是由蕭澤宏同志根據Jl. M. 多羅新斯基^[1]設計的，以後由作者實際進行。到1953年5月為止的半年時間中，經過六、七次的試驗，根瘤菌劑的製造基本上獲得了成功。乃於同年8月間正式製造了一批可供8,500畝拌種用的紫云英和苕子的根瘤菌劑（每瓶裝根瘤菌劑約1市斤，規定拌10畝地的種子），分別在本場及湘西、湘南等三十餘個專縣農場進行拌種試驗；又選擇了祁陽、靖縣、漣源等三縣作重點示範推廣。在製完這批根瘤菌劑以後，作者又連續進行了3—4次試驗，若干方面再度獲得改進。茲將製造過程、改進情況及田間效能等分述於下：

一. 根瘤菌劑的製造

用含有機質很豐富的泥土（溪港中的淤泥約含有機質8%以上）風乾後研成粉末狀，另取細砂洗滌（一次），風乾後過篩，泥沙按2:1的分量均勻混合，加碳酸鈣，使pH值保持在7.5左右。稱取這種泥沙混合物300克，加入充分腐熟的堆肥粉5克，甘露蜜醇1.5克，無氮培養液¹⁾45毫升，酵母水15毫升，自來水或井水約42毫升（加水多少須視泥土的含水量而定，我們所用泥土一般保持其含水量約32%—34%），均勻調和製成極濕潤的團塊，立即裝入500毫升容積的廣口玻璃瓶中。裝入時泥土一定要成為大小不等的團粒（直徑3—5毫米，必要時可稍加人工），然後

1) K ₂ SO ₄	0.9 克	CaSO ₄	0.2 克
K ₂ HPO ₄	0.3 克	FeCl ₃	0.04 克
KH ₂ PO ₄	0.3 克	MnSO ₄	0.04 克
NaCl	0.5 克	H ₃ BO ₃	0.04 克
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 克	H ₂ O	1000 毫升

經高壓蒸煮消毒，壓力15磅，時間30分鐘。

置入高壓殺菌器中消毒，冷卻後進行接種。每瓶接種 1—2 毫升細菌懸膠液（本所保存的優良菌種），置於保溫箱中（25—28°C）培養 1—2 星期。培養好了的根瘤菌劑，泥團外表非常濕潤，隱約可見一些反光膠體。培養得愈好，團粒外面的膠膜愈為明亮，愈在表層的土團其透明的膠膜愈厚，亦即根瘤菌菌落的集合愈多。

按照上述方法所培育的根瘤菌劑，每克泥土可含生活力強的根瘤菌四、五億至十億，在一瓶中，表層含菌最多，中層次之，下層最少。在每次試驗中，計算方法是採用扁平培養計算菌落法計算根瘤菌劑的菌數，每瓶根瘤菌劑分上、中、下三層。每個取樣 10 克，用無菌鹽基水（Thornton 配方）稀釋約 100 萬倍，取此稀液作扁平培養¹⁾，並計算扁平面上的菌落數，如菌落數過多，在扁平面計算很難準確。但為說明各種處理和分層中菌落的大致分佈情況起見，曾挑選兩瓶進行計算。茲將結果列入表 1，以供參考。

表 1 根瘤菌劑的菌落數（樣本稀釋 100 萬倍）

處 理	層次	三個樣本的實際菌落數	合計菌落數	平均菌落數	推算 1 克泥土中含菌數
A 2 (紫云英)	上	836 380 1254	2,470	823	823,000,000
	中	959 769 204	1,932	644	644,000,000
	下	214 327 665	1,206	402	402,000,000
B 2 (巢 菜)	上	1292 769 1520	3,581	1193	1,193,000,000
	中	2800 (未發生) 1273	1,553	776	776,000,000
	下	194 389 997	1,580	526	526,000,000

根據多羅新斯基的意見，根瘤菌劑在培養期間，如情況良好可能大量繁殖，由每克五千萬增到一億甚至十億，我們上述的試驗已達到這個目標。去年 8 月間曾依照上法正式大批製造，在成本、操作、處理各方面中發現一些缺點，其中最主要的有下列幾項：(i) 甘露蜜醇很適宜於根瘤菌的生長，但價錢太高；(ii) 泥沙混合物黏性太大，不易形成團粒，必須藉助於人力搓捻，費工很多；(iii) 處方中砂的成分太多，拌種時泥漿不易全部黏上種子。

1) 培養基的成分：

甘露蜜醇	10 克	Ca CO ₃	3.0 克
Na Cl	0.2 克	酵母水	100 毫升
K ₂ H PO ₄	0.5 克	洋菜	15 克
Mg SO ₄ · 7H ₂ O	0.2 克	H ₂ O	900 毫升
Ca SO ₄ · 2H ₂ O	0.1 克		

經高壓蒸消毒，壓力 15 磅，時間 30 分鐘。

我們曾另作試驗，將溪港沃泥不加細砂，而用碳酸鈣調節 pH 值至 7.5 左右。稱取 300 克，加甘露蜜醇 1.5 克，酵母水 15 毫升，培養液（這種培養液是由以前所用的無氮培養液加入 0.05% 的氮素而成）99 毫升。雖然沒有加堆肥粉，但因沒有混和細砂，培養基中有機質的含量提高，因此含水量增大（提高到 38%）。調和時泥土黏性反而減小了，能自己形成大小不等之團粒，不必再藉助人工搓捻，節省勞力很多。曾用扁平培養計算依此法所製成的紫云英根瘤菌劑的含菌數量。茲摘錄結果於表 2。

表 2 不加砂和堆肥粉的紫云英根瘤菌劑的菌落數（樣本稀釋 200 萬倍）

處理編號	層次	三個扁平培養面上的實際菌落			合計菌落數	平均菌落數	推算 1 克泥土中含菌數
C ¹	上	492	602	555	1,649	549.7	1,099,400,000
	中	437	325	255	1,017	339	678,000,000
	下	102	144	318	564	188	376,000,000

根據上述試驗的處理原則，可另用通用方法^[2]製備車軸草（紅三葉）乾草煎汁，代替甘露蜜醇及培養液。試驗處理為 300 克溪港泥加適量碳酸鈣，15 毫升酵母水和 99 毫升乾草煎汁（含水量為 38%），所得紫云英根瘤菌劑的菌落數有如表 3 所示。扁平培養計算菌落的結果為：

表 3 乾草煎汁製成的紫云英根瘤菌劑所含菌落數（樣本稀釋 200 萬倍）

處理編號	層次	六個扁平培養面上的實際菌落數						總共菌落數	平均菌落數	推算 1 克泥土中含菌數
D ¹ 和 D ²	上	784	862	864	851	749	774	4,884	814	1,628,000,000
	中	723	818	303	773	395	466	3,478	579.7	1,159,400,000
	下	624	301	588	134	367	491	2,505	417.5	835,000,000

表 3 證明車軸草的乾草煎汁代替甘露蜜醇及培養液，能使根瘤菌劑中的菌體繁殖得更多，每克最高含量可超過 16 億。

以後我們又曾採用草炭來試製根瘤菌劑，由於草炭含有大量的有機質，吸水力極強，同樣處理可更提高根瘤菌的數量。

處理方式為 100 克純草炭粉加適量碳酸鈣，5 毫升酵母水，60 毫升乾草煎汁和 23 毫升水。所製成的巢菜根瘤菌劑的菌落數如表 4 所示。

經過實際使用後，上面幾種試驗處理所製成的根瘤菌劑，有下列優點：

- (1) 根瘤菌直接接種到培養土中並在土中發育繁殖，較之一般用根瘤菌懸

表4 草炭製成的巢菜根瘤菌劑的菌落數 (樣本稀釋 500 萬倍)

處理編號	層次	四個扁平培養面上的實際菌落數				總共菌落數	平均菌落數	推算 1 克草炭中的含菌數
F'a和F'b	上	492	439	396	385	1,712	428	21 億 4 千萬
	中	360	349	567	452	1,728	432	21 億 6 千萬
	下	404	342	346	364	1,456	364	18 億 2 千萬

浮液混合草炭或其他物質所成的拌種劑為優。因為土壤適合根瘤菌自然繁殖的環境,可以提高根瘤菌的生活力;

(2) 用玻璃瓶原裝培養根瘤菌劑,可在培養後嚴閉瓶口,維持根瘤菌的生活能力較久,並可避免雜菌侵襲;

(3) 所製成的根瘤菌劑根瘤菌的含數很高,拌種時可以節省用量;

(4) 省去無氮培養液的大量使用,因為除微量元素外,泥土堆肥粉和酵母水中都含有一些養分;

(5) 大規模製造很方便,規格也易劃一。

二. 根瘤菌劑的田間效能

根據各農場及三個重點示範縣的普遍反映,拌種的紫云英與巢菜(苕子),生長情況很好,如與未拌種的相比較,不論是莖葉的高矮與壯瘦、顏色的濃綠與黃綠、根瘤的多少、根瘤着生的部位與色澤、抗寒與抗病蟲害力量的強弱等,都有程度不等的差別,尤其在新區使用後更為顯著。例如在祁陽八區太白山鄉過去未種過紫云英,軍屬楊先矩曾用接種和未接種兩種處理種植紫云英,其生長情況截然不同。接種紫云英莖長二尺多,桿子粗壯,分蘗力強,莖葉柔嫩,平均每株重 110 克,根上有 250 個左右的根瘤,大的如豌豆,色澤微紅。沒有接種的紫云英莖高只 6 寸,葉子發黃,莖細是衰老現象,分蘗很少,九株共重只有 37 克,根瘤也少。

本場曾進行拌種效能試驗,所種綠肥有紫云英與巢菜(苕子)兩種,並分別在水田和紅壤進行試驗,紫云英播種量每畝為 3 斤,巢菜為 5 斤。紫云英分根瘤菌劑接種(每瓶根瘤菌劑接 10 畝地的種子)、除根瘤接種(用前年收割青草時的紫云英根莖風乾後貯存,以鐮子取下乾瘤菌,加水搗汁來拌種,每畝用乾瘤菌 10 克加水約 100 毫升)、不接種三個處理,巢菜分根瘤菌劑接種與不接種兩個處理。一律隨機排列,在水田重複三次,小區面積 $\frac{1}{10}$ 畝,每畝施骨粉 20 斤,老糠灰 200 斤;在紅壤重複四次,

小區面積 $1/100$ 畝，每畝施骨粉 50 斤，火土灰 200 斤。紅壤試區在去年 9 月 29 日整土，30 日施肥並播種。水田試區在去年 9 月 25 日犁翻，26 日耙平，27 日播種，10 月 8 日施肥，以後逐週進行生長觀察。現將收割時植株生長情況及每區鮮草產量列為表 5。

表 5 鳳菜種植試驗

類別	試驗區	處理	分枝數	莖高 (厘米)	鮮莖葉 重(克)	鮮根重 (克)	根瘤數	瘤色	每畝鮮草 產量(市斤)	鮮草產量 百分率
紅	1	未接種	5.18	27.97	1.6	1.8	4.7	乳黃	107.8	100
		接種	6.39	46.44	4.49	9.39	46.4	紅褐	332.8	308.7
羅	2	未接種	--	57	--	--	0—11	黃	381	100
		接種	--	66.7	--	--	7—24	灰紅	543.75	140
水 田	1	未接種	4.03	44.59	5.35	1.35	3	黃褐	556	100
		接種	5.3	71.06	8.95	2.16	63.38	微紅	1065	190

* 表上前 5 欄數字係每小區 10 株平均。

表 6 紫云英種植試驗

類別	試驗區	處理	分枝數	莖高 (厘米)	鮮草莖葉 重(克)	鮮根重 (克)	根瘤數	瘤色	每畝鮮草 產量(市斤)	鮮草產量 百分率
紅	1	未接種	2.5	23.62	17.3	11.33	62.81	紅黑 褐	1359	100
		陳根瘤接種	3.25	29.2	32.38	18.02	105.19	褐白	1838	135.25
		根瘤菌劑 接種	3.65	32.03	38.5	13.75	82.07	水紅	2213	162.34
羅	2	未接種	--	38.9	--	--	0—8	黃白	312.5	100
		陳根瘤接種	--	37	--	--	5—27	黃白	343.75	110
		根瘤菌素 接種	--	50.4	--	--	34—125	粉紅	1181.25	378
水 田	1	未接種	3.0	47.86	18.5	--	--	--	310	100
		陳根瘤接種	4.5	49.65	19.75	--	--	--	280	90.32
		根瘤菌素 接種	4.75	53.08	21.5	--	--	--	332	107

* 上表中水田試區是栽培紫云英多年的老區，紅羅第二試區是從未種過紫云英和其他豆科綠肥作物的。

** 表上前 5 欄數字係每小區 10 株平均。

三. 結 論

1. 用含有機質豐富的泥土，加以適當的營養料，在無菌狀態下接種根瘤菌，並

以適溫培養，能使根瘤菌在泥土中大量繁殖，成爲一種良好的拌種劑——根瘤菌劑。

2. 泥土中有機質的含量愈高、吸水力愈強，用以製造根瘤菌劑，可使根瘤菌劑中含水量大大提高，對於根瘤菌的活動與繁殖起着重要作用。

3. 用三葉草的乾草煎汁來代替甘露蜜醇和培養液，在根瘤菌劑中更能提高菌體數目，並大大降低材料的成本。

4. 如選用有機質很豐富的泥土來製造根瘤菌劑，不加細砂，同樣可使根瘤菌充分繁殖，而且由於吸水力強，更便利於菌體的活動與繁殖，同時在調和泥土時，可以自然形成團粒，節省人力甚多。

5. 在湖南許多地區的田間和一些農場的試驗區內，根瘤菌劑的拌種效能非常顯著，可提高豆科綠肥的產量（尤其是在新區）。

參 考 文 獻

- [1] 多羅新斯基, П. М., (于祺元譯) 細菌肥料, 東北農業出版社出版。
- [2] 斐多羅夫, М. Б., (張天伏等譯) 微生物學實驗, 第 58 頁, 中華書局出版。
- [3] 綠肥草子接種根瘤菌在新區推廣獲得成功, 湖南農業技術通訊, 第 9 期 (1954)。