

ICS 65.020.99

CCS B 39

# T/WSWXH

新疆维吾尔自治区微生物学会团体标准

T/WSWXH 004—2022

## 光合细菌叶面肥生产技术规程

Technical rules for production of photosynthetic bacteria foliar fertilizer

2022 - 09 - 04 发布

2022 - 09 - 06 实施

新疆维吾尔自治区微生物学会 发布

## 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
3.1 光合细菌菌剂 inoculant of photosynthetic bacteria .....	1
3.2 原菌种 the original strain .....	1
3.3 一级菌种 first level strain .....	1
3.4 二级菌种 second level strain .....	1
4 生产用水和设施设备 .....	1
4.1 生产用水 .....	1
4.2 设施设备 .....	1
5 生产技术流程 .....	2
5.1 生产流程 .....	2
5.2 一级菌种质量 .....	2
5.3 培养基 .....	2
5.4 二级菌种 .....	2
5.5 光合细菌叶面肥调配 .....	2
6 生产记录 .....	3
6.1 生产、加工过程记录 .....	3
6.2 培养基采购使用记录 .....	3
6.3 记录保存 .....	3
附录 A (资料性) 光合细菌生产流程技术规程 .....	4
附录 B (资料性) 光合细菌培养基 .....	6

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由新疆农业科学院微生物应用研究所提出。

本文件由新疆维吾尔自治区微生物学会归口。

本文件起草单位：新疆农业科学院微生物应用研究所，新疆农业科学院农作物品种资源研究所，新疆大学生命科学与技术学院，石河子大学食品学院，新疆农业大学动物科学学院

本文件主要起草人：曾军、高雁、张龔、张志东、霍向东、孙建、王为兰、关波、胡友贞、陈开旭

# 光合细菌叶面肥生产技术规程

## 1 范围

本文件规定了光合细菌叶面肥生产环境、设备、技术流程、质量检测及储存。  
本文件适用于光合细菌叶面肥生产企业。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 5749 生活饮用水卫生标准  
GB/T 38579 生物产品中光合细菌测定  
NY/T 527 光合细菌菌剂  
GB 20287 农用微生物菌剂  
NY/T 1109 微生物肥料生物安全通用技术准则  
NY/T 798 复合微生物肥料

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1 光合细菌菌剂 inoculant of photosynthetic bacteria

专指紫色非硫光合细菌，以沼泽红假单胞菌（*Rhodospirillum rubrum*）、荚膜红细菌（*Rhodobacter capsulatus*）、类球红细菌（*Rhodobacter sphaeroides*）等菌种，采用有机、无机原料，经厌氧光照培养制成的活菌制品。

### 3.2 原菌种 the original strain

经由水环境和土壤等自然环境中分离，纯化并且鉴定的菌株。

### 3.3 一级菌种 first level strain

以原菌种经斜面（或摇瓶）种子培养后形成的培养物。

### 3.4 二级菌种 second level strain

将一级种子培养物转接后形成的培养物。

## 4 生产用水和设施设备

### 4.1 生产用水

光合细菌生产用水应符合GB 5749中规定的水质要求。

### 4.2 设施设备

#### 4.2.1 无菌操作间

具有更衣室，无菌操作台，环境中细菌总数达到一定要求的房间。

#### 4.2.2 菌种保藏室

菌种原种保藏和一级菌种暂时存储，宜放置有-80℃冰箱，-20℃冰箱和冷藏柜的房间。

### 4.2.3 规模化生产车间

光合细菌二级菌种扩大培养，应配备紫外杀菌灯，碘钨灯照明系统，搅拌罐，透明培养容器，抽吸水泵，温度计，分光光度计，称量称等。

### 4.2.4 叶面肥调配灌装车间

光合细菌二级菌种调配作物叶面菌肥车间，应配备搅拌罐，灌装设备等容器。

## 5 生产技術流程

### 5.1 生产流程

光合细菌生产应按附录 A 执行。

### 5.2 一级菌种质量

光合细菌一级菌种应为纯菌株不含杂菌，接种前菌种分光光度检测OD550 nm 吸光值 $\geq 1.5$ ，活菌数 $\geq 1 \times 10^{11}$  CFU/L，有效活菌数检测参照国家标准GB/T 38579执行。

### 5.3 培养基

光合细菌一级菌种培养基和生产培养基见附录A。

### 5.4 二级菌种

#### 5.4.1 培养容器

二级菌种培养使用无色透明的塑料袋培养塑料袋培养，塑料袋厚度0.01~0.12 mm，宽度宜为0.3~1.0 m，长度宜为10~100 m；使用透明玻璃容器生产，玻璃容器容量宜为10~20 L；柱形亚克力透明玻璃圆柱，容量宜为0.1~2 m<sup>3</sup>。

#### 5.4.2 培养条件

二级菌种培养总体条件为光照强度宜为4000~5000 Lx，培养温度宜为25~35℃，培养时间宜为3~7天。

#### 5.4.3 接种量

一级菌种接入量按二级培养体积的10~20%接入搅拌罐中与培养基重复混匀后，用泵吸入培养容器中。

#### 5.4.4 培养

照明使用500 w碘钨灯，每间隔3 m放置一个，碘钨灯距离培养容器高度宜为2 m。每日取容器中光合细菌液体对其菌液进行OD550 nm吸光值测定，待OD550 nm吸光值达到1.5以上停止培养。

### 5.5 光合细菌叶面肥调配

#### 5.5.1 叶面肥辅料

叶面肥辅料可包括表面活性剂、糖蜜、柠檬酸、EDTA、生长调节剂等。

#### 5.5.2 光合细菌叶面肥调配

将培养好的光合细菌二级菌种用泵吸入搅拌罐中，加入叶面肥辅料，然后打开搅拌转子20~50 rpm转速下将菌体与辅料搅拌均匀。

#### 5.5.3 光合细菌叶面肥灌装

调配好的光合细菌叶面肥宜使用自动灌装系统将其装不透明塑料桶中，密封，张贴好商标，商品符合GB 20287规定。

#### 5.5.4 产品质量

产品质量应符合国家行业标准NY/T 527和NY/T 798规定。

#### 5.5.5 储存

包装好的光合细菌产品应存储放置于仓库，4~15℃，通风避光直射。

### 6 生产记录

#### 6.1 生产、加工过程记录

生产、加工过程应记载菌种来源、发酵日期、培养时间、灌装日期、菌液颜色、菌数、发酵温度、pH值。

#### 6.2 培养基采购使用记录

培养基采购使用记录应记载培养基进货日期、名称、规格、批号、数量、供货商、索证、保质期限、验收人记录、培养基使用量。

#### 6.3 记录保存

记录应至少保存2年。

附录 A  
(资料性)  
光合细菌生产流程技术规程

## 1 光合细菌生产流程

### 1.1 技术流程

光合规模化生产主要分为一级菌种培养，二级菌种扩大培养，叶面肥调配三大关键环节，具体见图

1.

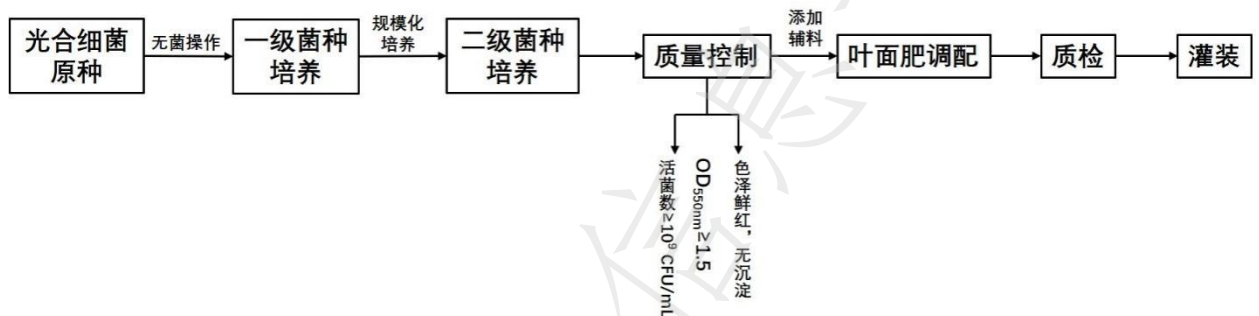


图 A.1 技术流程

## 1.2 光和细菌生产技术总结

### 1.2.1 一级菌种培养

#### 1.2.1.1 菌种

本产品所使用的菌种为紫色非硫光合细菌，菌种为沼泽红假单胞菌 (*Rhodopseudomonas palustris*)，荚膜红细菌 (*Rhodobacter capsulatus*)，类球红细菌 (*Rhodobacter sphaeroides*)，菌种类型符合NY/T 1109。

#### 1.2.1.2 培养基

光合细菌一级菌种培养基成分见附录B.1。

#### 1.2.1.3 接种及培养

无菌操作台中将三种光合细菌原种使用无菌接种针分别接种于无菌光合细菌培养基中，然后将培养瓶顶层使用塑料膜密封放置于30℃，光照强度5000 lx的光照培养箱中静置培养3~7天，待液体颜色变红时对种子液进行摇动，每日一次直至菌体OD550 nm吸光值达到1.5时培养结束。

### 1.2.2 二级菌种培养

#### 1.2.2.1 培养设施

二级菌种培养为规模化扩大培养，需要配备有配料台秤，搅拌罐，抽吸泵，培养前需先打开培养室的紫外线对培养空间进行灭菌30 min。

#### 1.2.2.2 培养基

光合细菌二级培养基成分见附录B.2。

#### 1.2.2.3 接种与培养

将培养基加入搅拌罐中加入自来水，边搅拌边溶解培养基，每种培养基分别依次序溶解，之后加入光合细菌一级菌种继续搅拌20 rpm~50 rpm速度搅拌30 min。一级菌种接种量控制为10%。使用泵将搅拌均匀的光合细菌和培养基打入培养容器。照明使用500 w 碘钨灯，每间隔3 m放置一个，碘钨灯距离培养容器高度2 m，控制培养室温度25~35℃，培养3~7天。

#### 1.2.2.4 质检

每日取容器中光合细菌液体进行菌液OD550 nm吸光值测定，待OD550 nm吸光值达到1.5以上停止培养。观察并记录菌体色泽以及气味。正常光合细菌色泽紫红至深红色，菌体悬浮性较好，pH值7~7.5。若菌体色泽发黑或者发黄，白色，气味馊臭，硫化氢气味重大，表明培养失败应及时处理掉，培养容器需要重新消毒。

### 1.2.3 叶面肥调配

#### 1.2.3.1 叶面肥辅料

叶面肥辅料有表面活性剂、糖蜜、柠檬酸、EDTA。

#### 1.2.3.2 叶面肥调配

将培养好的光合细菌泵吸入搅拌罐中，加入叶面肥辅料，然后打开搅拌转子20 rpm~50 rpm转速下将菌体与辅料搅拌均匀。

#### 1.2.3.3 光合细菌叶面肥灌装

调配好的光合细菌叶面肥使用自动灌装系统将其灌装入1L, 5 L不透明塑料桶中，密封，张贴好商标。

#### 1.2.4 产品质量

产品质量应符合国家行业标准NY/T 527规定。

#### 1.2.5 储存

包装好的光合细菌产品存储放置于仓库，4~15℃，通风避光直射

全国团体标准信息平台

**附录 B**  
(资料性)  
光合细菌培养基

**B.1 光合细菌一级菌种培养基**

蛋白胨	3.0 g
酵母浸粉	2.4 g
氯化钙 ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.3 g
硫酸镁 ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.5 g
蒸馏水	1000 ml

将溶液 pH 调节至 6.8~7.0, 121℃ 高压灭菌 15 min。

**B2. 光合细菌二级培养基**

酵母粉	0.1 kg
乙酸钠 ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$ )	1.0 kg
丙酸钠 ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{Na}$ )	0.5 kg
氯化钙 ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.3 kg
硫酸镁 ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.2 kg
磷酸氢二钾 ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	1.0 kg
微量元素	1 ml
自来水	1000 L
微量元素成分	
乙二胺四乙酸钠 (EDTA)	0.5 g
硫酸亚铁 ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.2 g
硫酸锌 ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.01 g
四水氯化锰 ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	0.003 g
硼酸 ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	0.03 g
氯化钴 ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	0.02 g
氯化铜 ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.001 g
氯化镍 ( $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	0.002 g
二水钼酸钠 ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.003 g
去离子水	1000 ml

各成分按照顺序添加进搅拌罐, 然后全部培养基成分溶解后, 调节培养基 pH 值 6.8~7。