

# T/ACCEM

团 体 标 准

T/ACCEM XXXX—XXXX

## 盐碱地有益微生物菌群筛选及扩繁技术规范

Technical specification for screening and propagation of beneficial microbial flora in  
saline-alkali land

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

中国商业企业管理协会 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

4 筛选原则 ..... 1

5 筛选流程 ..... 2

6 扩繁技术要求 ..... 3

7 质量控制 ..... 3

## 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由新疆大滋然生物科技有限公司提出。

本文件由中国商业企业管理协会归口。

本文件起草单位：新疆大滋然生物科技有限公司、新疆权达理企业服务有限公司、××××

本文件主要起草人：×××、×××、×××

# 盐碱地有益微生物菌群筛选及扩繁技术规范

## 1 范围

本文件规定了盐碱地有益微生物菌群筛选及扩繁技术的筛选原则、筛选流程、扩繁技术要求和质量控制。

本文件适用于盐碱地有益微生物菌群筛选及扩繁技术的应用。

## 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/T 42828.3—2023 盐碱地改良通用技术 第 3 部分：生物改良

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**盐碱地** saline-alkali land

盐渍化土地

土壤中含有较多可溶性盐分而使非耐盐性植物不能正常生长的土地。

[来源：GB/T 42828.3—2023，3.1]

### 3.2

**有益微生物菌群** beneficial microbial flora

能够在盐碱环境下生存，并对盐碱地土壤结构改善、肥力提升、植物生长促进等方面具有积极作用的微生物群体。

### 3.3

**筛选** screening

从盐碱地土壤、植物根茎等样本中分离、鉴定出具有特定有益功能微生物菌群的过程。

### 3.4

**扩繁** expansion and reproduction

通过人工培养手段，增加有益微生物菌群数量，使其达到实际应用所需规模的操作。

## 4 筛选原则

### 4.1 耐盐碱性

筛选出的微生物菌群应具备在高盐碱环境下生存和繁殖的能力，能够耐受一定浓度的盐分和碱性 pH 值。在筛选过程中，应模拟不同梯度的盐碱环境，测试微生物菌群在极端条件下的存活率和生长速率，确保其在实际盐碱地环境中能够稳定存活并发挥作用。

### 4.2 功能有效性

应具有明确的改良盐碱地土壤、促进植物生长等功能，如解磷、解钾、固氮、分泌植物生长激素等。除了常见功能，还应关注微生物菌群对盐碱地土壤中有害物质（如重金属）的转化、固定能力，以及对土壤团粒结构的改善作用，从多方面评估其对盐碱地生态系统的修复效能。

#### 4.3 安全性

对环境、动植物及人类无致病性、无毒性等安全风险。应通过常规的致病性检测，还应开展长期的生态安全性评估，观察微生物菌群在盐碱地生态系统中是否会引发生物入侵、基因漂移等潜在风险，确保其应用不会对生态环境造成负面影响。

#### 4.4 遗传稳定性

筛选的微生物菌群在传代培养和实际应用过程中，其遗传特性应保持稳定，避免因基因变异导致功能丧失或产生不良性状。应采用分子生物学手段对微生物菌群的遗传物质进行监测，确保其在多次扩繁和应用后仍能维持原有功能和特性。

#### 4.5 协同性

若筛选多种微生物组成菌群，各微生物之间应具有良好的协同作用，能够相互促进生长和功能发挥。应通过混合培养试验，分析不同微生物组合在盐碱地环境下的代谢产物变化、生长速率及功能表现，筛选出协同效应最佳的微生物菌群组合。

### 5 筛选流程

#### 5.1 样本采集

##### 5.1.1 采集地点

应选择具有代表性的盐碱地区域，包括不同盐碱化程度、植被类型等。在每个采样区域内，按照梅花形或棋盘式布点法确定采样点。

##### 5.1.2 采集方法

5.1.2.1 使用无菌采样工具采集土壤样本。视土壤水分、通气状况和植株大小决定植物根系的挖掘深度，将整株植物的根系挖出，轻轻敲掉根系周围大的土块。

5.1.2.2 每个样本采集量应不少于 500 g，装入无菌袋中，标记采样地点、时间、样本类型等信息。

#### 5.2 微生物分离

##### 5.2.1 富集培养

将采集的样本加入含有特定营养成分和高浓度盐分的富集培养基中，在适宜温度下振荡培养一定时间，使目标微生物菌群得到富集。

##### 5.2.2 平板分离

采用稀释涂布平板法或平板划线法，将富集培养后的菌液接种到分离培养基上，在适宜条件下培养，待长出单菌落。

#### 5.3 菌株鉴定

##### 5.3.1 形态学鉴定

观察单菌落的形态、颜色、大小、边缘特征等，对微生物进行初步分类。同时，通过显微镜观察细胞形态、大小、排列方式等特征。

### 5.3.2 生理生化鉴定

进行一系列生理生化试验，如糖发酵试验、氧化酶试验、接触酶试验等，根据试验结果确定微生物的种类。

### 5.3.3 分子生物学鉴定

提取微生物的基因组 DNA，采用 PCR 扩增 16S rRNA 基因或其他特异性基因片段，进行测序分析，与已知数据库比对，确定微生物的分类地位。

## 5.4 功能筛选

### 5.4.1 耐盐碱性测定

将分离鉴定后的微生物接种到不同盐分浓度和 pH 值的培养基中，测定其生长曲线，确定其耐盐碱性范围。

### 5.4.2 功能特性测定

通过相应的功能检测方法，如测定解磷微生物的溶磷圈大小、固氮微生物的固氮酶活性、分泌植物生长激素微生物的激素含量等，筛选出具有目标功能的微生物。

## 6 扩繁技术要求

### 6.1 培养基选择

根据筛选出的微生物菌群的营养需求，选择合适的培养基。培养基应包含碳源、氮源、无机盐、生长因子等成分，确保微生物能够快速生长繁殖。

### 6.2 培养条件

#### 6.2.1 温度

应根据微生物的最适生长温度，设定培养温度，一般在（25~37）℃ 之间，对于一些特殊的耐盐碱微生物，应根据特性调整培养温度。

#### 6.2.2 pH 值

应调节培养基的 pH 值至微生物适宜生长的范围，对于耐盐碱微生物，pH 值可适当提高。

#### 6.2.3 通气量

6.2.3.1 对于好氧微生物，应提供充足的氧气，可通过振荡培养、通气搅拌等方式实现。

6.2.3.2 对于厌氧微生物，应采用厌氧培养装置，创造无氧环境。

### 6.3 培养方式

可采用液体培养或固体培养方式：

- a) 液体培养适合大规模扩繁，可通过发酵罐进行工业化生产；
- b) 固体培养适用于一些对生长环境要求较为特殊的微生物，如采用固体培养基平板或发酵床等方式。

## 7 质量控制

### 7.1 纯度检测

应定期对扩繁后的微生物菌群进行纯度检测，采用平板划线法或显微镜观察，确保无杂菌污染。

## 7.2 活性检测

应通过测定微生物的生长速率、代谢产物产量等指标，检测微生物的活性。活性应不低于筛选时的水平。

## 7.3 功能验证

应定期对扩繁后的微生物菌群进行功能验证，如解磷、固氮等功能，确保其功能稳定性。

---