

# 甘肃地区猪发酵床土著菌种安全性评价

丁文姣, 李晓蓉, 董俊

(甘肃省农业科学院畜草与绿色农业研究所, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 以小白鼠为实验动物, 对甘肃地区筛选出的7株猪发酵床土著菌种进行了安全性评价。结果显示, 接种后的小白鼠均无死亡, 采食情况、行为能力、体貌特征均无异常, 表明筛选出的7个土著菌种均安全可靠, 可以用于猪发酵床制作接种并作为合成菌剂的备选菌种。

**关键词:** 发酵床养猪; 土著菌种; 安全性评估; 甘肃

**中图分类号:** S828 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2013)07-0030-03

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2013.07.012](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2013.07.012)

## Safety Evaluation of Local Fermentation Strains of Pig in Fermentation bed in Gansu Area

DING Wen-jiao, LI Xiao-rong, DONG Jun

(Animal Pasture and Green Agricultural Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

**Abstract:** The safety evaluation of virulence test about 7 strains native microorganism which isolated from pig fermentation bed was studied. The test animals are mice, Through breeding and observing the experimental animals, we could assess the 7 strains native microorganism were safety at first. The results showed that the mice were alive, and eating situation, active ability and posture, facial features were normal.

**Key words:** Pig raising fermentation bed; Local fermentation strains; Safety evaluation; Gansu

土著菌种发酵床养猪技术利用周围自然环境的生物资源, 即采集本地土壤中的多种有益微生物, 通过对这些微生物进行培养、扩繁, 形成有相当活力的微生物母种, 再合成菌剂用于发酵床养猪, 菌剂的安全及可靠是其进行推广的基础与前提。为此, 我们对前期分离筛选的土著菌种进行了安全性检验, 现将结果报道如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

供试菌种为2010年7月至2011年4月从兰州、

武威、临洮3地采集不同种类样品的分离所得(见表1)和活力99生酵剂(市售)。供试培养基为马铃薯蔗糖琼脂(PSA), 肉汁胨琼脂(BPA), 肉汁胨培养液。供试小白鼠为昆明系小白鼠, 标准体重20 g左右, 共100只, 雌雄各半, 购于兰州大学。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 菌种分离及纯化 在超净工作台用灭菌器械挑取标样1 g左右于灭菌锥形瓶内, 用无菌水定容到100 mL, 震荡20 min后静置5 min, 然后将其稀释到质量浓度为 $10^{-8}$  g/mL, 分别在 $10^{-4}$ 、 $10^{-6}$ 、

表1 供试标样来源

标样采集地点	采集时间	样品种类
兰州市某养猪场	2011年4月	半干粪、新鲜猪粪
甘肃省农业科学院	2010年10月至2011年4月	腐熟猪粪
临洮某养猪场	2010年7月至2011年4月	发酵床垫料、腐熟猪粪、新鲜猪粪
武威黄羊某养猪场	2010年7月至2010年9月	发酵床垫料、新鲜猪粪

收稿日期: 2013-06-19

基金项目: 甘肃省农牧厅农业生物技术研究与应用开发项目“猪发酵床发酵菌剂研究与应用(2012y0978)”部分内容

作者简介: 丁文姣(1980—), 女, 山东潍坊人, 研究实习员, 主要从事资源微生物利用研究工作。联系电话: (0)15095325368。E-mail: dingwenjiao@tom.com

通讯作者: 董俊(1962—), 男, 甘肃定西人, 高级畜牧师, 主要从事牛、羊、猪现代高效养殖技术研究工作。联系电话: (0931)7615562。

表2 代表性菌种及来源

菌种编号	标样采集地点	标样采集种类
JZ1	甘肃省农业科学院	未添加锯末自然堆放40 d腐熟猪粪(常温条件下提取)
JZ2	甘肃省农业科学院	未添加锯末自然堆放40 d腐熟猪粪(80 °C高温处理后提取)
JZ3	甘肃省农业科学院	添加锯末自然堆放40 d腐熟猪粪(常温条件下提取)
JZ4	甘肃省农业科学院	未添加锯末自然堆放280 d腐熟猪粪(常温条件下提取)
JZ5	临洮某养猪场	新鲜猪粪(常温条件下提取)
JZ6	临洮某养猪场	腐熟猪粪(80 °C高温处理后提取)
JZ7	武威黄羊某养猪场	新鲜猪粪(常温条件下提取)
JZ8(菌种对照)	市售	活力99生酵剂

10<sup>-8</sup> g/mL浓度下各取0.5 mL悬液平铺于PSA平板上;再将10<sup>-2</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-6</sup> g/mL 3个浓度悬液80 °C恒温水浴处理30 min后各取0.5 mL平铺于BPA平板上,每处理5个平板,37 °C黑暗条件下培养24 h。取出培养好的平板,统计每个标样所分离出菌种的类型计数,并挑取长势良好的菌种划线接入BPA培养基纯化培养,在PSA平板上培养闻味初筛,挑取气味不刺鼻的单菌落作为备选菌种保存备用。

1.2.2 菌种安全性毒力试验 将备选菌种活化至PSA,置于37 °C恒温培养箱培养。将活化好的菌种接种至肉汁胨培养液,37 °C恒温条件下摇床培养48 h,取培养好的菌液于血球计数板计数,计算1 mL菌液的活菌数。试验设菌种接种为主处理(A),共9个,处理A1为用菌种JZ1接种2次,处理A2为用菌种JZ2接种2次,处理A3为用菌种JZ3接种2次,处理A4为用菌种JZ4接种2次,处理A5为用菌种JZ5接种2次,处理A6为用菌种JZ6接种2次,处理A7为用菌种JZ7接种2次,处理A8为用菌种JZ8接种2次(活力99生酵剂,菌种对照),处理⑨为不接种,空白对照。设接种处理方式和接种菌液量为副处理(B),共3个,处理B1为灌胃0.25 mL/只,处理B2为灌胃0.50 mL/只,处理B3为腹腔注射0.50 mL/只。每处理取6只小鼠(雌雄各3只),先用菌液浓度为5 × 10<sup>8</sup>个/mL的菌种接种1次,饲养观察14 d后再用菌液浓度为50 × 10<sup>8</sup>个/mL的菌种接种1次,饲养观察14 d。试验前1 d给小鼠断食断水,接种处理好的小鼠1 h后正常喂食饮水,在20 °C恒温条件下饲养观察。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌种分离纯化结果

通过对采集自兰州、武威、临洮3地不同样源类型的19个样品标本经分离、纯化,共获得纯化菌种167株。

### 2.2 菌种安全性评价

根据对功能菌的样源地、样品类型、产酶特点、生长状况的综合分析,选取前期试验中获得的具有代表性的土著功能菌种7株和商品菌种作为菌

种对照布置毒力试验,代表性菌种及来源见表2。

试验结果(表3)表明,从菌种接种方面可以看出,第1次接种后饲养观察14 d,各处理对小鼠采食状况、饮水、行为能力以及体貌特征如毛况等均无影响,小白鼠均未出现死亡。第2次接种后饲养观察14 d,各处理的小白鼠也均未出现死亡,采食和精神状态良好。接种2次后各处理小白鼠的生长情况同接种前。试验结束后剖解观察小白鼠各脏器(如心脏、肺脏、肝脏、肾脏、胃、肠、气管、生殖器官等部位)均无病变且无出血点,表明所选7个土著菌种安全无毒。进一步将这些菌种对实验动物小白鼠经口灌胃法、腹腔注射法进行毒力试验的结果表明,不同菌液用量灌胃处理和腹腔注射处理的小白鼠均未出现死亡,且采食状况、行为能力以及精神状态均无异常。综合以上结果,试验评价的7株土著功能菌种均安全可靠,可以用于猪发酵床制作接种并作为合成菌剂的备选菌种。

表3 选取菌种安全性试验

处理	菌种编号	第1次接种死亡数量(只)			第2次接种死亡数量(只)		
		B1	B2	B3	B1	B2	B3
A1	JZ1	0	0	0	0	0	0
A2	JZ2	0	0	0	0	0	0
A3	JZ3	0	0	0	0	0	0
A4	JZ4	0	0	0	0	0	0
A5	JZ5	0	0	0	0	0	0
A6	JZ6	0	0	0	0	0	0
A7	JZ7	0	0	0	0	0	0
A8	JZ8	0	0	0	0	0	0
A9		0	0	0	0	0	0

## 3 小结与讨论

1) 试验筛选出的7个土著菌种菌株均为甘肃地区土著功能菌种。试验结果表明,不同菌液用量灌胃处理和腹腔注射处理的小白鼠均未出现死亡,且小白鼠采食状况、行为能力以及精神状态均无异常,即7株土著功能菌种均安全可靠,可以用于猪发酵床制作接种并作为合成菌剂的备选菌种,

# 11个马铃薯新品种(系)在临洮县引种试验初报

樊彦兵

(甘肃省临洮县农业技术推广中心, 甘肃 临洮 730500)

**摘要:** 在临洮县马铃薯主产区龙门镇,对引进的马铃薯新品种(系)进行了比较试验,结果表明,0306-18-1、定选2号、新大坪等田间长势较强,抗旱丰产,商品性状好,折合产量为35 755.8~29 604.7 kg/hm<sup>2</sup>,大薯率76%以上。

**关键词:** 马铃薯;新品种(系);引种;临洮县

**中图分类号:** S532 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2013)07-0032-02

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1463.2013.07.013

马铃薯是临洮县主栽农作物,年种植面积4万hm<sup>2</sup>左右。近年来,马铃薯市场需求大,因其产量高、效益可观,已成为农民的主要经济来源之一。但目前生产上种植的马铃薯品种单一,中熟品种缺乏,品种结构性矛盾突出。为此,2012年甘肃省临洮县农业技术推广中心从定西市旱作农业科研推广中心引进马铃薯新品种(系)11个在龙门镇进行试验观察,以期筛选出适宜临洮县推广种植的优良马铃薯新品种(系)。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试马铃薯品种(系)共11个,分别为定薯1号、0306-18-1、0302-43、0302-22、0306-25、0306-26、0307-30、A05-1、中薯9号、定选2号、新大坪,均由定西市旱作农业推广科研中心马铃薯综合试验站提供。对照品种为陇薯3号,由甘肃省农业科学院会川马铃薯繁育基地提供原种。

### 1.2 试验方法

试验设在临洮县龙门镇农盟村冶山社旱地梯田。海拔2 200 m,降水量498.4 mm,年均气温4.5℃,≥10℃的有效积温2 500℃。试验地土质为黄绵土,肥力中等,前茬为药材。前茬收后及时翻耕耙耱纳雨蓄墒。播前结合整地一次性施入尿素

375 kg/hm<sup>2</sup>、过磷酸钙600 kg/hm<sup>2</sup>、碳酸氢铵375 kg/hm<sup>2</sup>,磷酸二铵300 kg/hm<sup>2</sup>、N、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>比例为1.0:0.7。马铃薯现蕾期追施尿素150 kg/hm<sup>2</sup>。试验随机区组设计,3次重复,小区面积25.2 m<sup>2</sup>(7.0 m×3.6 m)。小区间留30 cm走道,四周留60 cm保护行。单行垄作露地种植,行距60 cm,株距32 cm,种植密度为52 500株/hm<sup>2</sup>。4月13日播种,播种前先将马铃薯切块,用58%宝大森可湿性粉剂1 500 g拌5 250 g种薯,6月29日结合培土起垄追施尿素150 kg/hm<sup>2</sup>。田间观察记载各参试品种(系)的物候期、出苗情况、田间长势、农艺性状和抗逆性,其它管理同大田。根据不同品种(系)成熟期分别收获,各小区单收计产,收获时观察记载薯块性状。记载均按国家马铃薯品种试验记载标准进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 生育期

由表1可知,中薯9号、A05-1生育期分别较对照品种陇薯3号提前56、51 d,为中早熟品种;0306-26、0306-25生育期分别较对照缩短47、45 d,为中熟品种;其余品种生育期为124~138 d,除新大坪、0307-30、定选2号较对照缩短10、7、2 d外,定薯1号、0306-18-1、0302-43、0302-22较对照延长2~4 d,为晚熟品种。

收稿日期:2013-04-15

作者简介:樊彦兵(1968—),男,甘肃临洮人,助理农艺师,主要从事农业技术推广工作。联系电话:(0)15809467936。

但今后尚需进一步扩大实验动物数量,继续进行长期的安全性评价。

2) 发酵床养猪技术自近年传入我国后,目前不分南北都有采用,商业公司宣传为“生物环养猪法”。但实际生产中存在许多客观问题,因此,对

合成菌剂的菌种在菌剂合成之前进行安全性风险评估,建立适合我国国情的菌种安全性评价体系,对保证发酵床养殖的安全性有重要的意义。

(本文责编:郑立龙)