

前 言

本标准在原有标准 NY/T 227—1994《微生物肥料》的基础上,对其中的磷细菌肥料部分进行修改。主要修改内容如下:

- 增加术语、抽样和判定规则部分;
- 增加菌种部分,包括菌种有效性、菌体特性特征、菌落形态;
- 删除成品无害化指标。因为磷细菌肥料一般以草炭为载体,不存在重金属的危害。草炭经高温灭菌后,大肠菌群和蛔虫卵不再存在。

本标准自实施之日起,同时代替 NY/T 227—1994 中的磷细菌肥料部分。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 都是标准的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准起草单位:农业部微生物肥料质量监督检验测试中心、中国农业科学院土壤肥料研究所。

本标准主要起草人:梁绍芬、姜瑞波、葛诚、李俊、沈德龙。

中华人民共和国农业行业标准

NY 412 2000

磷 细 菌 肥 料

Phosphate bacteria fertilizer

1 范围

本标准规定了磷细菌肥料产品的分类、技术要求、抽样、检验方法、检验规则、包装、标识、运输和贮存等。

本标准适用于含有益磷细菌微生物,能分解土壤中的难溶性磷化物,改善作物磷素营养状况,又能分泌刺激素刺激作物生长发育的活体微生物制品。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 6543—1986 瓦楞纸箱

NY 411—2000 固氮菌肥料

3 定义

本标准采用下列定义。

3.1 磷细菌肥料

能把土壤中难溶性的磷转化为作物能利用的有效磷素营养,又能分泌刺激素刺激作物生长的活体微生物制品。

4 产品分类

4.1 按剂型不同分为:液体磷细菌肥料、固体粉状磷细菌肥料和颗粒状磷细菌肥料。

4.2 按菌种及肥料的作用特性分为:有机磷细菌肥料、无机磷细菌肥料。

4.2.1 有机磷细菌肥料:能在土壤中分解有机态磷化物(卵磷脂、核酸和植素等)的有益微生物经发酵制成的微生物肥料。分解有机态磷化物的细菌有芽胞杆菌属中的种(*Bacillus* sp.)、类芽胞杆菌属中的种(*Paenibacillus* sp.)。

4.2.2 无机磷细菌肥料:能把土壤中难溶性的不能被作物直接吸收利用的无机态磷化物溶解转化为作物可以吸收利用的有效态磷化物。分解无机态磷化物的细菌有假单胞菌属中的种(*Pseudomonas* sp.)、产碱菌属中的种(*Alcaligenes* sp.)、硫杆菌属中的种(*Thiobacillus* sp.)。

使用本标准规定之外的菌种生产磷细菌肥料时,菌种必须经过鉴定,而且必须为非致病菌菌株。

5 技术要求

5.1 菌种的有效性

用于生产磷细菌肥料的菌种,必须是从国家菌种中心或国家科研单位引进的并经过鉴定对动物和植物均无致病作用的非致病菌菌株;这些菌株在含有卵磷脂或磷酸三钙的琼脂平板上培养,能观察到明

中华人民共和国农业部 2000-12-22 批准

2001-04-01 实施

显的溶磷圈;发酵培养后解磷量与不接菌对照比较有显著差异($p \leq 0.05$)。

5.1.1 有机磷细菌:芽胞杆菌属的细菌为革兰氏染色阳性,能产生抗热的芽胞,为椭圆形或柱形周生或侧生鞭毛,能运动,能产生接触酶。

5.1.2 无机磷细菌:假单胞菌属中的细菌为革兰氏染色阴性杆菌,极生的单鞭毛或丛鞭毛,能运动,接触酶阳性。此属中的部分菌株为致病菌,必须进行严格的菌种鉴定后才能用于生产。产碱菌属的细菌,细胞呈杆状,1~4根周生鞭毛,能运动,革兰氏染色呈阴性,接触酶阳性。硫杆菌属的菌为革兰氏染色阴性小杆菌,单根极生鞭毛,能运动,严格自养。

5.2 产品技术指标

5.2.1 液体磷细菌肥料技术指标见表1。

表1 液体磷细菌肥料技术指标

项 目		指 标
外观、气味		浅黄或灰白色混浊液体,稍有沉淀,微臭或无臭味
有效活菌数 亿个/mL	有机磷细菌肥料	≥ 2.0
	无机磷细菌肥料	≥ 1.5
杂菌率 ¹⁾ ,%		≤ 5
pH 值		4.5~8.0
有效期,月		≥ 6
1) 杂菌率包括在选择培养基上的杂菌数和在马丁培养基上的霉菌数。其中对霉菌数的规定为:一般磷细菌肥料的霉菌数要求少于 30.0×10^5 个/mL(g),拌种剂磷细菌肥料霉菌数要求少于 10.0×10^4 个/mL(g)。		

5.2.2 固体(粉状)磷细菌肥料技术指标见表2。

表2 固体(粉状)磷细菌肥料技术指标

项 目		指 标
外观、气味		粉末状、松散、湿润、无霉菌块,无霉味,微臭
水分,%		25~50
有效活菌数 亿个/g	有机磷细菌肥料	≥ 1.5
	无机磷细菌肥料	≥ 1.0
细度(粒径)		通过孔径 0.20 mm 标准筛的筛余物 $\leq 10\%$
pH 值		6.0~7.5
杂菌率,%		≤ 10
有效期,月		≥ 6

5.2.3 固体(颗粒)磷细菌肥料技术指标见表3。

表3 固体(颗粒)磷细菌肥料技术指标

项 目		指 标
外观、气味		松散、黑色或灰色颗粒,微臭
水分,%		≤ 10
有效活菌数 亿个/g	有机磷细菌肥料	≥ 0.5
	无机磷细菌肥料	≥ 0.5
细度(粒径)		全部通过 2.5~4.5 mm 孔径的标准筛

表 3(完)

项 目	指 标
pH 值	6.0~7.5
杂菌率, %	≤20
有效期, 月	≥6

6 抽样

按每一发酵罐菌液制成的产品为一批,逐批抽样检验。抽样过程要严格避免杂菌污染。

6.1 抽样工具及用品

抽样前预先准备好无菌塑料袋(或塑料瓶)、金属勺、剪刀、封口机、牛皮纸封样袋、标签、抽样封条和胶水。

6.2 抽样数量及抽样方法

在成品库抽样,可按“∴”形分层设点抽取,抽样以件为单位,小包装产品以一包装箱为一件。大包装(30~50 kg)产品以一袋(或一桶)为一件。抽样件数由样品基数的大小确定。10件以内全部抽样;11~200件抽样10件;201~400件抽取20件。样品基数大于400件者,按超过部分的2%增加抽样件数。但总件数不要超过40件。

每件小包装产品抽取一小袋,在无菌条件下每袋取样200g。然后将所有样品混匀,按四分法缩到2000g,分装4袋,然后封口。每2袋为一份装入牛皮封样袋。最后贴上抽样标签和抽样封条(液体肥料小包装亦参照此法进行)。所抽样品一份留存被抽样单位,一份交检测中心检测。

7 检验方法

7.1 仪器设备及试剂

7.1.1 仪器设备

恒温培养箱;
 恒温干燥箱;
 恒温摇床;
 高速离心机;
 生物显微镜(10×100);
 高压灭菌锅;
 酸度计;
 扭力天平(分度值0.01g);
 菌落计数器;
 无菌室或超净工作台;
 培养皿:直径9cm;
 三角瓶:500mL,100mL;
 烧杯:500mL;
 量筒:100mL;
 无菌吸管:0.5,1.0,5.0,10.0mL;
 玻璃刮刀;
 滤纸;
 酒精灯;
 标准筛:孔径0.18mm,2.5mm,5.0mm;

铝盒；

1号羊毛画笔。

7.1.2 试剂和培养基

7.1.2.1 试剂

蒸馏水；

无离子水；

无菌水。

7.1.2.2 培养基(见附录 D)

7.1.2.2.1 肉汤培养基(见附录 D1)。

7.1.2.2.2 有机磷细菌培养基(见附录 D2)。

7.1.2.2.3 无机磷细菌培养基(见附录 D3)。

7.1.2.2.4 马丁培养基(见附录 D4)。

7.2 成品检验

7.2.1 气味检验

将液体或固体磷细菌肥料的包装打开,用手煽动包装口处的空气,嗅其气味。

7.2.2 外观检查

将固体磷细菌肥料包装打开,置于白色搪瓷盘中,液体肥料摇匀,在明亮的光线下进行观察。

7.2.3 pH 值测定

液体磷细菌肥 pH 值的测定:取供检菌液于 50 mL 烧杯中直接用酸度计测定 pH 值,取三次测定结果的平均值。

固体磷细菌肥 pH 值的测定:在分度值 0.01 g 的扭力天平上称取供检样品 15.00 g,置于 500 mL 烧杯中,用量筒量取 30.0 mL 蒸馏水,用磁力搅拌或手摇动 1 min,然后静止 30 min,用酸度计测其 pH 值,重复 3 次,取其算术平均值。

7.2.4 含水量测定

称取固体磷细菌肥料 3 份,每份 20.00 g,精确到 0.01 g,放入已称恒重的铝盒中,置 105℃ 干燥箱内烘烤 4 h,移至干燥器内,冷却后称重。取三个样品测定数的平均值。平行样品绝对偏差应低于 1%。

含水量按式(1)计算:

$$\text{含水量}(\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中: m_0 ——烘干前样品质量, g;

m_1 ——烘干后样品质量, g。

7.2.5 吸附剂颗粒细度测定

准确称取 10.0 g 样品,置于孔径 0.20 mm 的标准筛中,用水冲洗,用毛笔轻刷至样品不再通过为止。将筛余物置 105~110℃ 温度下烘干,称重。

筛余物百分含量按式(2)计算:

$$\text{筛余物}(\%) = \frac{\text{筛余物重} \div (1 - \text{样品含水量百分数})}{\text{样品质量}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

颗粒肥料的粒径称样后直接过 2.5 mm 和 4.5 mm 的标准筛即可。

7.2.6 磷细菌肥料有效活菌数及杂菌率的测定

采用平板计数法测定有效活菌数和杂菌率。

7.2.6.1 制作肉汤培养基平板和马丁培养基平板(配方见附录 D)

7.2.6.2 样品稀释培养及计数

称取 10 g 供检样品(精确到 0.01 g),装入带玻璃珠及 100 mL 无菌水的三角瓶中(如供检样品为液

体,则取 10 mL 加入装 90 mL 无菌水的三角瓶中),置转速为 200 r/min 的摇床振荡 30 min,然后静置 20 min 后用 10 倍稀释法稀释至 10^{-1} (液体样品稀释至 10^{-8})。从最后三个浓度悬液中各取 0.1 mL 加到直径 9 cm 含培养基的平板上,用玻璃刮刀将菌液涂匀。每个稀释度重复 3 次。28~30℃ 温度下培养 2~5 d。在马丁培养基上加入 10^{-3} 稀释度悬液测定霉菌数。

7.2.6.3 菌落鉴别及计数

根据被检产品菌种的菌落特征与杂菌区别开。必要时进行革兰氏染色(见附录 A)或芽胞染色(见附录 B),在显微镜下观察,取菌落 20~300 的平板计数。计算出三个重复的有效磷细菌菌落平均数。

有效磷细菌菌落以外的其他细菌菌落为细菌杂菌菌落数。在马丁培养基上计出霉菌菌落数。有效磷细菌活菌数按式(3)计算:

$$\text{有效磷细菌活菌数(个/g)} = \text{有效菌落平均数} \times \frac{\text{母液体积(mL)}}{\text{称样量(g)} \times \text{加样量(mL)}} \times \text{稀释倍数} \dots\dots\dots(3)$$

杂菌数为马丁培养基上的霉菌数与选择培养基上出现的杂菌数之和。杂菌数按式(4)计算:

$$\text{杂菌数(个/g)} = \text{杂菌菌落平均数} \times \text{稀释倍数} \times \frac{\text{母液体积(mL)}}{\text{样品量(g)} \times \text{加样量(mL)}} \dots\dots\dots(4)$$

杂菌率按式(5)计算:

$$\text{杂菌率(\%)} = \frac{\text{杂菌菌落平均数}}{\text{磷细菌菌落平均数} + \text{杂菌菌落平均数}} \times 100 \dots\dots\dots(5)$$

7.2.6.4 磷细菌解磷效能测定

7.2.6.4.1 平皿定性测定

将有机磷细菌或无机磷细菌培养基融化后冷却至 45℃ 左右倒入灭菌平皿,每皿约 15 mL 左右,凝固后培养基表面无冷凝水后待用。待测菌种活化后加入适量无菌水,刮下菌苔,制成均匀的菌悬液。用灭菌滴管滴入备用的平板上,每皿可均匀地分别滴四个点。待滴入的菌悬液干后才可反转置于 28~30℃ 恒温箱中培养,2~3 d 后可观察结果。在菌落周围有透明圈为有溶磷或解磷作用,无透明圈的为不溶磷、少溶磷,或不解磷、少解磷。

7.2.6.4.2 钼锑抗比色法定量测定

将磷细菌接种到相应的磷细菌液体培养基的三角瓶中,置摇床(200 r/min)上保温 30℃ 振荡培养 72 h。下摇床后加入无磷活性炭脱色高速离心,将上清液倾出待测。用钼锑抗比色法测定有效磷含量(见附录 B)。

7.2.7 有效期的检验

在产品说明书标明的有效期到达前 10 d 测定活菌数,活菌数达到标准要求的即为有效期合格。

8 检验规则(判定规则)

8.1 检验分类

8.1.1 产品出厂检验

产品交货时进行的检验。

8.1.2 产品型式检验

新产品鉴定或国家质检机构质量监督检验。

8.2 检验项目

型式检验的检验项目按 5.2.1 或 5.2.2 要求进行。出厂检验不检有效期。

8.3 判定规则

菌肥中有效菌活菌的数量是微生物肥料质量关键指标,是一切微生物肥料的产品必须达到的指标。所规定的外观、水分、细度、有机质、pH 值作为微生物肥料质量检验参考指标。

对产品是否合格作如下规定:

- a) 有效活菌数不合格时该产品判定为不合格产品；
- b) 有效活菌数合格,杂菌率合格,参考指标四项(包含四项)以上不合格,该产品判定为不合格品；
- c) 有效活菌数合格,而杂菌率不合格,但小于 5.2.3 所规定的 2 倍时参考指标一项不合格者,该产品判定为合格产品；参考指标有两项以上(含两项)不合格者,该产品判定为不合格；
- d) 有效活菌数合格,杂菌率大于 5.2.3 所规定的 2 倍；或者微生物肥料霉菌数大于或等于 6.0×10^5 个/g(mL),拌种剂霉菌数大于等于 3.0×10^5 个/g(mL)对该产品判为不合格产品。其他各项符合,可判为合格产品。

9 包装、标识、运输和贮存

9.1 包装

9.1.1 内包装

液体肥料小包装用塑料瓶或玻璃瓶,大包装用塑料桶。固体肥料用不透明聚乙烯塑料袋包装。颗粒磷细菌肥料亦可用编织袋包装。

9.1.2 外包装

外包装采用纸箱,纸箱质量应符合 GB/T 6543 的要求。箱外用尼龙打包带加固。

9.1.3 每箱(袋)产品中附有产品合格证和使用说明书,在使用说明中标明使用方法、用量及注意事项。

9.2 标识、运输和贮存

磷细菌肥料的标识、运输和贮存按 NY 411--2000 中的 9.2、9.3 和 9.4 执行。

附录 A
(标准的附录)
革兰氏染色

A1 染色剂

A1.1 结晶紫液〔赫克尔(Hucker)氏配方〕

甲液： 结晶紫	2 g
乙醇(95%)	20 mL
乙液： 草酸铵	0.8 g
蒸馏水	80 mL

甲、乙两液相混，静置 48 h 后使用。此染液较稳定，在不透气的暗色瓶中可储存数月。

A1.2 卢哥(Lugol)氏碘液

碘(I ₂)片	1 g
碘化钾(KI)	2 g
蒸馏水	300 mL

先用少量(3~5 mL)蒸馏水溶解碘化钾，再投入碘片，待碘全溶后，加水至 300 mL。保存在棕色瓶中待用。

A1.3 脱色液

95%的乙醇液。

A1.4 复染液

0.5%的番红水溶液	
番红 2.5%的酒精溶液	20 mL
蒸馏水	80 mL

将此液贮存于棕色瓶中使用时再稀释。

A2 涂片

A2.1 在无油迹的干净载片上注明日期、片号。

A2.2 在载片上滴加无菌水一小滴，用接种环挑取少许菌苔，于水滴边缘轻涂几下。

A2.3 自然风干或微热促其快干，干后在火焰上通过 2~3 次，以固定涂片。

A3 染色步骤

A3.1 滴加结晶紫液，覆盖约 1 min。

A3.2 用水冲净结晶紫液。

A3.3 先以碘液冲去残水，再加碘液覆盖约 1 min。

A3.4 用水冲去碘液，将片上水甩净或用滤纸吸干。

A3.5 将片倾斜，并衬以白背景，流滴 95%酒精液约 20~30 s，立即用水冲净酒精。

A3.6 用番红液染 1~2(或更多)min。

A3.7 用水洗净番红，用滤纸吸干表面水或风干。备镜检。

A4 观察结果

用显微镜油镜直接在载玻片上观察。红色为革兰氏染色阴性，蓝紫色为革兰氏染色阳性。观察细菌

的个体形状、排列、大小、是否有芽胞及形状、大小和着生位置等。

A5 注意事项

A5.1 革兰氏染色的配方很多,但染色成功与否很大程度上取决于经验。在没有把握时,最好在同一个载玻片上,用大肠杆菌和金黄色葡萄球菌作为革兰氏染色阴性和染色阳性的对照菌。

A5.2 革兰氏染色操作中,以涂片和脱色两步最为重要。涂片切不可过于浓厚。对于易于乳化的细菌,将沾有菌苔的接种环在水滴边缘轻轻涂一二下即可。镜检时,以分散开的细菌的革兰氏染色反应为准。过于密集的细菌,常常呈假阳性。对纯细菌的涂片,以95%乙醇易于掌握。乙醇中含有更多的水分,则脱色力加强,易形成假阴性。因此要尽量减少载玻片上的残水。用甩净或用乙醇冲去残水,以脱色20 s为宜;用滤纸吸净残水,可用乙醇脱色近30 s。

A5.3 用火焰固定时不可过热,以载玻片不烫手为宜。过热会使染色反应不正确。实际上对斜面纯细菌涂片,风干后不经火焰固定即可染色。

A5.4 推荐的复染液是0.5%番红液,比一般文献上的浓度浓一倍,这样更好用。

A5.5 龙胆紫不是单一成分的染料,与结晶紫不同,染色后,常常不易脱色,出现假阳性。遇到这种情况,将染剂稀释后使用。试用的龙胆紫稀释成十分之一的浓度可以使用,但颜色仍然不如结晶紫。

A5.6 对一般容易生长的异养细菌,以检查培养18~24 h的菌为宜。革兰氏染色阴性细菌的染色反应稳定,不易受菌龄的影响。革兰氏染色阳性细菌的染色反应,有的受菌龄的影响:较幼的细胞,培养18~24 h或更短的,呈阳性反应;较老的细胞,培养24 h或48 h以上的细胞,则部分或全部细胞转变为阴性反应。在区分革兰氏染色反应时应注意。

附录 B

(标准的附录)

芽胞染色

B1 染色剂

B1.1 7.6%孔雀绿

孔雀绿	7.6 g
蒸馏水	100 mL

B1.2 0.5%番红液

番红 2.5%的酒精液	20 mL
蒸馏水	80 mL

B2 涂片(方法同 A2)

B3 染色

- 用孔雀绿染液染滴于载片上10 min左右;如果加热使冒水蒸气则效果更好;
- 用自来水冲洗;
- 用0.5%番红液复染30 s;
- 用水冲洗后吸干、镜检。

B4 结果观察

油镜下观察,芽胞呈绿色,菌体和芽胞囊呈微红色。但菌体中有异染粒时,也可呈现绿色。

附 录 C
(标准的附录)
钼锑抗比色法测定有效磷

C1 试剂配制

C1.1 2,6-二硝基酚[C₆H₅OH(NO₂)₂]指示剂:0.25 g 2,6-二硝基酚溶于 100 mL 水中(饱和液)。

C1.2 无磷活性炭

C1.2.1 含磷量少的活性炭直接用 0.5 mol 碳酸氢钠(NaHCO₃)浸 24 h。在布氏漏斗上抽气过滤,每次用少量蒸馏水淋洗多次,直至检查滤液无磷为止,然后烘干装瓶待用。

C1.2.2 含磷量多的活性炭首先用 2 mol/L 盐酸(HCl)浸泡过夜,用蒸馏水冲洗多次后再用 0.5 mol 碳酸氢钠(NaHCO₃)浸泡处理。

C1.3 钼锑抗贮存液

浓硫酸(H₂SO₄)(分析纯)153 mL 缓缓地倾入约 400 mL 蒸馏水中,搅拌、冷却。10.0 g 钼酸铵(分析纯)溶于约 60℃ 的 300 mL 水中,冷却。然后将硫酸溶液缓缓滴入钼酸铵溶液中,再加入 100 mL 0.5% 酒石酸锑钾溶液[K(SbO)C₄H₄O₆· $\frac{1}{2}$ H₂O 分析纯],最后用水稀释至 1 L,盛于棕色瓶中。

C1.4 钼锑抗显色剂:称 1.5 g 抗坏血酸(C₆H₈O₆,左旋比旋光度+21~22℃分析纯),溶于 100 mL 钼锑抗贮存液中。此液随配随用,有效期 1 d。

C1.5 5 mg/L 磷标准液:称取在 105℃ 烘箱中烘 2 h 后冷却的磷酸二氢钾(KH₂PO₄ 分析纯)0.439 g 溶于 200 mL 水中,加入 5 mL 浓硫酸(H₂SO₄),转入 1 L 容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度即为 100 mg/L 磷标准液,可长期保存备用。取此溶液准确稀释 20 倍即为 5 mg/L 磷标准液,此溶液不宜久放。

C1.6 配制 10%硫酸(H₂SO₄),10%氢氧化钠(NaOH)。

C2 操作步骤

C2.1 将发酵液加入适量活性炭脱色,离心,吸取上清液 2~10 mL(含 5~25 μg 磷)于 50 mL 容量瓶中,用水稀释至 20 mL,加 2,6-二硝基酚指示剂 2 滴,用 10%氢氧化钠或稀硫酸溶液调节 pH 至溶液刚呈微黄色(小心缓加,边加边摇,防止产生的二氧化碳把溶液喷出瓶口),然后加入钼锑抗显色剂 5 mL 摇匀,定容至刻度。在室温 20℃~25℃下放置 30 min 后在分光光度计上用波长 680~700 nm(红色滤光片)比色,以空白试验溶液为参比液调零点。读取数值,在工作曲线上查出显色液磷的读数。颜色在 8 h 内可保持稳定。

C2.2 工作曲线的绘制

分别吸取 5 mg/L 磷标准溶液 0、2、3、4、5、6 mL 于 50 mL 容量瓶中,加水稀释至约 20 mL,加入钼锑抗显色剂 5 mL,摇匀定容,即得 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mg/L 磷标准系列溶液,与待测溶液同时比色,读出数值。在方格坐标纸上以测得数值为纵坐标,磷 mg/L 数为横坐标,绘制成工作曲线。

C3 结果计算

有效磷按式(C1)计算:

$$\text{有效磷}(\%) = \frac{\text{显色液磷读数} \times \text{显色液体积} \times \text{分取倍数}}{W \times 10^9} \times 100 \dots\dots\dots(C1)$$

式中:显色液磷(P)读数——从工作曲线上查得显色液磷的读数;

显色液体积——50 mL;

分取倍数——发酵液体积(三角瓶)(mL)/吸取发酵液(mL);

W ——发酵液中加入有机或无机磷化物物质的质量(指每个三角瓶),g;
 10^6 ——将 μg (微克)换算成,g;
 两次平行测定结果允许误差为 $<5\%$ 。

附录 D

(标准的附录)

测定磷细菌活菌数及杂菌含量的培养基

D1 肉汤培养基(测磷细菌菌数)

蛋白胨	5 g/L
牛肉膏	5 g/L
氯化钠(NaCl)	5 g/L
琼脂	18~20 g/L
蒸馏水	1 000.0 mL
pH	6.8~7.0

D2 有机磷细菌培养基(测磷细菌解磷效能)

葡萄糖	10.0 g/L
硫酸铵 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$	0.5 g/L
酵母粉	0.5 g/L
氯化钠(NaCl)	0.3 g/L
氯化钾(KCl)	0.3 g/L
硫酸镁 $(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$	0.3 g/L
硫酸铁 $(\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$	0.03 g/L
硫酸锰 $(\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$	0.03 g/L
卵磷脂	0.2(酒精溶解)g/L
碳酸钙 (CaCO_3)	1.0 g/L
琼脂	18~20 g/L
蒸馏水	1 000.0 mL
pH	7.0~7.5

D3 无机磷细菌培养基(测磷细菌解磷效能)

葡萄糖	10.0 g/L
硫酸铵 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$	0.5 g/L
酵母粉	0.5 g/L
氯化钠(NaCl)	0.3 g/L
氯化钾(KCl)	0.3 g/L
硫酸镁 $(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$	0.3 g/L
硫酸铁 $(\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$	0.03 g/L
硫酸锰 $(\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$	0.03 g/L
磷酸钙 $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$	5.0 g/L
琼脂	18~20 g/L

蒸馏水	1 000.0 mL
pH 值	7.0~7.5

D4 马丁培养基(测霉菌数)

磷酸二氢钾(KH ₂ PO ₄)	1.0 g/L
硫酸镁(MgSO ₄ · 7H ₂ O)	0.5 g/L
1%孟加拉红水溶液	3.3 mL
葡萄糖	10.0 g/L
蛋白胨	5.0 g/L
琼脂	18~20 g/L
蒸馏水	1 000.0 mL

每升培养基中加 0.1 g 氯霉素,一起灭菌。
