

## 权 利 要 求 书

1、一种抗病杀虫生物有机肥，其特征在于，原料按重量份计包括以下组分：有机肥 85 份，细黄链霉菌 1-10 份，解淀粉芽孢杆菌 1-4 份，苏云金芽孢杆菌 1-4 份，黄腐酸钾 1-3 份。

所述有机肥通过以下方法制备得到：以禽粪便和秸秆为原料，其中，粪便与秸秆的重量比为 8:2-9:1，将原料粉碎后搅拌均匀，加水，使其含水量达到 75%，再加入菌渣或尿素拌和均匀，其中，菌渣或尿素占粪便、秸秆和水混合物质量总量的 1%；加入石灰粉调节 pH 到 6.8-7.2 之间，将原料堆成条堆，当堆温升到 60℃ 以上后，每隔 4-5 天翻堆一次，如此反复，使堆温保持在 60℃ 以上 12 天，原料呈黑褐色、无臭味，温度开始降至常温，表明发酵完成；低温烘干，使其水分含量 ≤ 30%，制备得到有机肥。

2、根据权利要求 1 所述的抗病杀虫生物有机肥，其特征在于，所述抗病杀虫生物有机肥中的有机质含量 ≥ 40.0%，粪大肠菌群 ≥ 100 个/g，有效活菌数 ≥ 0.2cfu 亿/g，蛔虫卵死亡率 ≥ 95%。

~~3、根据权利要求 1 所述的抗病杀虫生物有机肥，其特征在于，所述有机肥通过以下方法制备得到：以禽粪便和秸秆为原料，其中，粪便与秸秆的重量比为 8:2-9:1，将原料粉碎后搅拌均匀，加水，使其含水量达到 75%，再加入菌渣或尿素拌和均匀，其中，菌渣或尿素占粪便、秸秆和水混合物质量总量的 1%；加入石灰粉调节 pH 到 6.8-7.2 之间，将原料堆成条堆，当堆温升到 60℃ 以上后，每隔 4-5 天翻堆一次，如此反复，使堆温保持在 60℃ 以上 12 天，原料呈黑褐色、无臭味，温度开始降至常温，表明发酵完成；低温烘干，使其水分含量 ≤ 30%，制备得到有机肥。~~

43、一种抗病杀虫生物有机肥的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

步骤 1、制备有机肥；

步骤 2、制备细黄链霉菌活体菌；

步骤 3、制备解淀粉芽孢杆菌活体菌；

步骤 4、制备苏云金芽孢杆菌活体菌；

步骤 5、称量：按照质量百分比称量以下组分：有机肥 85 份，细黄链

霉菌 1-10 份，解淀粉芽孢杆菌 1-4 份，苏云金芽孢杆菌 1-4 份，黄腐酸钾 1-3 份；

步骤 6、将称量好的有机肥，细黄链霉菌，解淀粉芽孢杆菌，苏云金芽孢杆菌，黄腐酸钾进行混合，检验各活体菌数  $\geq 0.20$  亿个/克，有机质含量  $\geq 40\%$ ，水分含量  $\leq 30\%$ ，分大肠菌群数  $\leq 100$  个/g，检验合格后包装。

~~5、根据权利要求 4 所述的制备方法，其特征在于，~~所述有机肥通过以下方法制备得到：以禽粪便和秸秆为原料，其中，粪便与秸秆的重量比为 8:2-9:1，将原料粉碎后搅拌均匀，加水，使其含水量达到 75%，再加入菌渣或尿素拌和均匀，其中，菌渣或尿素占粪便、秸秆和水混合物质量总量的 1%；加入石灰粉调节 pH 到 6.8-7.2 之间，将原料堆成条堆，当堆温升到 60℃ 以上后，每隔 4-5 天翻堆一次，如此反复，使堆温保持在 60℃ 以上 12 天，原料呈黑褐色、无臭味，温度开始降至常温，表明发酵完成；低温烘干，使其水分含量  $\leq 30\%$ ，制备得到有机肥。

~~64、根据权利要求 43 所述的制备方法，其特征在于，~~所述制备细黄链霉菌活体菌种具体为：

步骤 2.1、制备高氏合成 1 号培养基：选用高氏合成 1 号培养基调节好 pH 值，121℃，0.15MP 条件下灭菌 20min，降温至 45℃ 左右加入到试管和茄子瓶中，将处理好的试管和茄子瓶 37℃ 培养 24 小时后，备用；

步骤 2.2、菌种活化：将细黄链霉菌接种至高氏合成 1 号培养基试管斜面上，28℃ 培养 2-3 天，检查有无杂菌；

步骤 2.3、将活化好的试管斜面菌种划线接种至高氏合成 1 号培养基的茄子瓶斜面上，28℃ 培养 3 天；

步骤 2.4、无菌状态下将无菌蒸馏水加入培养好的茄子瓶中，用接种环轻轻刮下菌苔，摇匀制成菌悬液，菌悬液浓度为 150-200 亿/ml；

步骤 2.5、摇瓶发酵菌种液的制备：将制好的菌悬液接种到三角瓶液体发酵培养基中，1000ml 三角瓶装液量 200ml，接种量 3%，210r/min，28℃ 培养 3 天，得到发酵用液体菌种；

步骤 2.6、发酵生产：收集上述摇瓶发酵液，接种至 300L 液体发酵罐中，

接种量 5%，装量 240L 液体发酵培养基，30℃，210r/mim 培养 3 天，有大量孢子产生，发酵结束；

步骤 2.7、将发酵完成的菌种吸附于灭菌糠粉或草木灰载体上，发酵完  
5 备的菌种与灭菌糠粉或草木灰载体的重量比为 1:1-1:4，烘干，使其水分≤  
10%。

75、根据权利要求 64 所述的制备方法，其特征在于，所述高氏合成 1  
号培养基的组分如下：可溶性淀粉 20.0g，K<sub>2</sub>HP<sub>4</sub>0.5g，NaCl 0.5g，KNO<sub>3</sub> 1.0g，  
MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g，FeSO<sub>4</sub> 0.01g，蒸馏水 1.0L；液体发酵培养基为：可溶性  
10 淀粉 4.5%（w/w），蔗糖 0.5%（w/w），豆饼粉 4.5%（w/w），NaNO<sub>3</sub>0.2%  
（w/w），ZnSO<sub>4</sub>0.01%（w/w），KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>0.001%（w/w），余量为水，以上  
质量百分含量总量为 100%，pH7.4，121℃，20mim 灭菌，备用。

86、根据权利要求 43 所述的制备方法，其特征在于，所述根据权利要  
求 4 所述的制备方法，其特征在于，所述制备解淀粉芽孢杆菌活体菌种具体  
为：

15 步骤 3.1、制备营养肉汤培养基，选用营养肉汤培养基调节好 pH 值，  
121℃，0.15MP 条件下灭菌 20min，降温至 45℃加入到试管和茄子瓶中，将  
处理好的试管和茄子瓶 37℃培养 24 小时后，备用；

步骤 3.2、菌种活化：将保藏的解淀粉芽孢杆菌接种至营养肉汁培养基  
试管斜面上，37℃培养 18 小时，检查有无杂菌；

20 步骤 3.3、将活化好的试管斜面菌种划线接种至营养肉汁培养基的茄子  
瓶斜面上，37℃培养 18 小时；

步骤 3.4、无菌状态下将 100ml 无菌蒸馏水加入培养好的营养肉汁培养  
基的茄子瓶中，用接种环轻轻刮下菌苔，摇匀制成菌悬液，菌悬液浓度为  
150-200 亿/ml；

25 步骤 3.5、摇瓶发酵菌种液的制备：将制好的菌悬液接种到液体三角瓶  
发酵培养基中，1000ml 三角瓶装液量 200ml，接种量 3%，200r/mim，37℃  
培养 18 小时，得到发酵用液体菌种；

步骤 3.6、发酵生产：收集上述摇瓶发酵液，接种至 300L 液体发酵罐中，

接种量 5%，装量 240L 液体发酵培养基，37℃，200r/mim 培养 24 小时，镜检，当菌液浓度达到 100 亿/ml 时，发酵结束；

步骤 3.7、将发酵完成的菌种吸附于灭菌糠粉或草木灰载体上，发酵完  
5 备的菌种与灭菌糠粉或草木灰载体的重量比为 1:1-1:4，烘干，使其水分 ≤ 10%。

97、根据权利要求 86 所述的制备方法，其特征在于，所述营养肉汤培养基，按 1.0L 计，包括以下组分：蛋白胨 10.0g，NaCl 5.0g，牛肉提取物 3.0g，pH7.0。

108、根据权利要求 43 所述的制备方法，其特征在于，所述制备苏云金  
10 芽孢杆菌活体菌种具体为：

步骤 4.1、制备营养肉汤培养基，选用营养肉汤培养基调节好 pH 值，121℃，0.15MP 条件下灭菌 20min，降温至 45℃左右加入到试管和茄子瓶中，将处理好的试管和茄子瓶 37℃培养 24 小时后，备用；

步骤 4.2、菌种活化：将保藏的解淀粉芽孢杆菌接种至营养肉汁培养基  
15 试管斜面上，30℃培养 18 小时，检查有无杂菌；

步骤 4.3、将活化好的试管斜面菌种划线接种至营养肉汁培养基的茄子瓶斜面上，30℃培养 18 小时；

步骤 4.4、无菌状态下将 100ml 无菌蒸馏水加入培养好的茄子瓶中，用接种环轻轻刮下菌苔，摇匀制成菌悬液，菌悬液浓度为 150-200 亿/ml；

20 步骤 4.5、摇瓶发酵菌种液的制备：将制好的菌悬液接种到液体三角瓶发酵培养基中，1000ml 三角瓶装液量 200ml，接种量 3%，200r/mim，30℃培养 18 小时，得到发酵用液体菌种；

步骤 4.6、发酵生产：收集上述摇瓶发酵液，接种至 300L 液体发酵罐中，接种量 5%，装量 240L 液体发酵培养基，30℃，200r/mim 培养 24 小时，镜  
25 检，当菌液浓度达到 100 亿/ml 时，发酵结束；

步骤 4.7、搅拌液体使菌体分布均匀，在液体中加入灭菌糠粉，其中，液体和糠粉的重量比为 1:2，进行吸附，吸附后的糠粉低温烘干使其水分 ≤ 10%。

