



中华人民共和国国家标准

GB/T 20287-202X
代替 GB 20287-2006

农用微生物菌剂

Microbial inoculants in agriculture

(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。
(注：征求意见时必须保留这句话。)

XXXX -XX-XX 发布

XXXX -XX-XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

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。

本文件代替GB 20287—2006《农用微生物菌剂》，与GB 20287—2006相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了部分术语和定义（见3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7）；
- b) 更改了菌种要求（见5.1，2006年版的5.1）；
- c) 更改了有效活菌数的技术指标要求（见表1，2006年版的表1）；
- d) 更改了杂菌率的技术指标要求（见表1，2006年版的表1）；
- e) 更改了水分的技术指标要求（见表1、表2，2006年版的表1、表2）；
- f) 删除了细度的技术指标要求（2006年版的表1、表2）
- g) 更改了酸碱度（pH）的技术指标要求（见表1、表2，2006年版的表1、表2）；
- h) 更改了纤维素酶活的技术指标要求（见表2，2006年版的表2）；
- i) 增加了内生菌根菌剂产品的技术指标要求（见表3）；
- j) 增加了藻类菌剂产品的技术指标要求（见表4）；
- k) 更改了砷（As）、镉（Cd）、铅（Pb）和汞（Hg）的限量指标要求（见表5，2006年版的表3）；
- l) 更改了有效活菌数、霉菌杂菌数、杂菌率、水分、酸碱度（pH）、纤维素酶活、蛋白酶活、砷（As）、镉（Cd）、铅（Pb）、铬（Cr）、汞（Hg）测定方法及引用文件（见6.2、6.7，2006年版的6.3）；
- m) 增加了繁殖体数（内生菌根真菌孢子数）测定方法（见6.3、附录A）；
- n) 增加了单细胞藻体数测定方法（见6.4、附录B）；
- o) 更改了结果判定（见7.3，2006年版的7.3）。

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这些专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出并归口。

本文件起草单位：农业农村部微生物肥料和食用菌菌种质量检验检测中心、中国农业科学院农业资源与农业区划研究所。

本文件主要起草人：***、***、***。

本文件及其所代替的历次版本发布情况为：

——2006年首次发布为GB 20287—2006；

——本次为第一次修订。

农用微生物菌剂

1 范围

本文件规定了农用微生物菌剂（即微生物接种剂）的术语和定义、产品分类、要求、检测方法、检验规则、包装、标识、运输和贮存。

本文件适用于农用微生物菌剂类产品。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB 18382 肥料标识 内容和要求

GB/T 19524.1 肥料中粪大肠菌群的测定

GB/T 19524.2 肥料中蛔虫卵死亡率的测定

GB/T 41728 微生物肥料质量安全评价通用准则

HG/T 2843 化肥产品 化学分析常用标准滴定溶液、标准溶液、试剂溶液和指示剂溶液

NY/T 1978 肥料 汞、砷、镉、铅、铬、镍含量的测定

NY/T 2321 微生物肥料产品检验规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

农用微生物菌剂 microbial inoculants in agriculture

目标微生物（有效菌）经过工业化生产扩繁后加工制成的活菌制剂，具有直接或间接改良土壤、恢复地力，维持根际微生物区系平衡，降解有毒、有害物质等作用；应用于农业生产，通过其中所含微生物的生命活动，增加植物养分的供应量或促进植物生长、改善农产品品质及农业生态环境。

3.2

有效菌 functional microorganism; effective microorganism

样品中的目的微生物群体。

[来源：NY/T 1113—2006，7.6]

3.3

有效活菌数 number of functional microorganism ; number of effective microorganism

每克或每毫升样品中有效菌（3.2）的数量。

[来源：NY/T 1113—2006，7.7，有修改]

3.4

杂菌 contaminating microorganism

样品中有效菌（3.2）以外的其它菌。

[来源：NY/T 1113—2006，7.8]

3.5

杂菌数 number of contaminating microorganism

每克或每毫升样品中杂菌（3.4）的数量。

[来源：NY/T 1113—2006，7.9]

3.6

杂菌率 percentage of contaminating microorganism

样品中杂菌数（3.5）占有效活菌数（3.3）与杂菌数（3.5）之和的百分数。

[来源：NY/T 1113—2006，7.10]

3.7

菌落 colony

微生物在固体基质上生长繁殖形成的肉眼可见的、具有一定形态特征的细胞聚集体。

[来源：NY/T 1113—2006，3.3]

4 产品分类

产品按剂型可分为液体和固体，固体剂型包含粉剂和颗粒。产品按内含的微生物种类或功能特性可分为根瘤菌菌剂、固氮菌菌剂、解磷类微生物菌剂、硅酸盐微生物菌剂、光合细菌菌剂、有机物料腐熟剂、促生菌剂、内生菌根菌剂、土壤修复菌剂、藻类菌剂等。

5 要求

5.1 菌种

使用的微生物菌种应安全、有效。生产者应提供菌种的分类鉴定报告，包括属及种的学名、形态、生理生化特性及鉴定依据等完整资料，以及菌种安全性评价资料。采用生物工程菌的，应具有获准允许大面积释放的生物安全性有关批文。菌株安全性应符合GB/T 41728的规定。

5.2 外观（感官）

农用微生物菌剂产品应为均匀的液体或固体。悬浮型液体产品应无大量沉淀，沉淀轻摇后分散均匀；粉剂产品应松散；颗粒产品应无明显机械杂质、大小均匀。

5.3 技术指标

农用微生物菌剂应符合表1的要求，其中有机物料腐熟剂应符合表2的要求，内生菌根菌剂应符合表3的要求，藻类菌剂应符合表4的要求。

表1 农用微生物菌剂产品技术指标

项目	技术指标	
	液体	固体
有效活菌数 ^a ，亿 CFU/g(mL)	≥2.0	≥2.0
霉菌杂菌数，CFU/g(mL)	≤3.0×10 ⁶	≤3.0×10 ⁶
杂菌率，%	≤10.0	≤20.0
水分，%	—	≤30.0
酸碱度（pH） ^b	5.0~8.5	5.0~8.5
有效期 ^c ，月	≥3	≥6
^a 若含两种及两种以上有效菌的复合菌剂，每一种有效菌的数量不应少于 0.01 亿 CFU/g(mL)。		
^b 含乳酸菌类产品酸碱度（pH）可小于 5.0。		
^c 此项仅在监督部门或仲裁双方认为有必要时才检测。		

表2 有机物料腐熟剂产品技术指标

项目	技术指标	
	液体	固体
有效活菌数 ^a ，亿 CFU/g(mL)	≥1.0	≥0.50
纤维素酶活 ^b ，U/g(mL)	≥60.0	≥60.0
蛋白酶活 ^c ，U/g(mL)	≥15.0	≥15.0
水分，%	—	≤30.0
酸碱度（pH） ^d	5.0~8.5	5.0~8.5
有效期 ^e ，月	≥3	≥6
^a 若含两种及两种以上有效菌的复合菌剂，每一种有效菌的数量不应少于 0.01 亿 CFU/g(mL)。		
^b 以农作物秸秆类为腐熟对象的产品测定纤维素酶活。		
^c 以畜禽粪便类为腐熟对象的产品测定蛋白酶活。		
^d 含乳酸菌类产品酸碱度（pH）可小于 5.0。		
^e 此项仅在监督部门或仲裁双方认为有必要时才检测。		

表3 内生菌根菌剂产品技术指标

项目	技术指标	
	液体	固体
繁殖体数（内生菌根真菌孢子数），个/g(mL)	≥70	≥70
水分，%	—	≤20.0
酸碱度（pH）	5.0~8.5	5.0~8.5
有效期 ^a ，月	≥3	≥6
^a 此项仅在监督部门或仲裁双方认为有必要时才检测。		

表 4 藻类菌剂产品技术指标

项目	技术指标
单细胞藻体数，个/mL	$\geq 1.0 \times 10^6$
酸碱度（pH）	5.0~8.5
有效期 ^a ，月	≥ 3
^a 此项仅在监督部门或仲裁双方认为有必要时才检测。	

5.4 限量指标

应符合表5的要求。

表 5 农用微生物菌剂产品限量指标

项目	限量指标
粪大肠菌群数，个/g (mL)	≤ 100
蛔虫卵死亡率，%	≥ 95
砷（As）（以烘干基计），mg/kg	≤ 15
镉（Cd）（以烘干基计），mg/kg	≤ 3
铅（Pb）（以烘干基计），mg/kg	≤ 50
铬（Cr）（以烘干基计），mg/kg	≤ 150
汞（Hg）（以烘干基计），mg/kg	≤ 2

6 检测方法

6.1 一般要求

本文件方法中所用水，除非另有说明，应符合GB/T 6682中三级水的规定。本文件方法中所用试剂和溶液，在未注明规格和配制方法时，均应符合HG/T 2843的规定。

6.2 有效活菌数、霉菌杂菌数、杂菌率、水分、酸碱度（pH）、纤维素酶活、蛋白酶活的测定

按照NY/T 2321的规定执行。

6.3 繁殖体数（内生菌根真菌孢子数）的测定

按照附录A的规定执行。

6.4 单细胞藻体数的测定

按照附录B的规定执行。

6.5 粪大肠菌群数的测定

按照GB/T 19524.1的规定执行。

6.6 蛔虫卵死亡率的测定

按照GB/T 19524.2的规定执行。

6.7 砷（As）、镉（Cd）、铅（Pb）、铬（Cr）、汞（Hg）含量的测定

按照NY/T 1978的规定执行，以烘干基计。

7 检验规则

7.1 检验类别与检验项目

产品检验分为出厂检验和型式检验。出厂检验由生产企业质量检验部门按表1、表2、表3或表4进行检验。型式检验项目包括第5章的全部项目，一般情况下，一个季度进行一次。在有下列情况之一时进行型式检验：

- a) 新产品鉴定；
- b) 产品的工艺、原料等发生变化时；
- c) 停产再复产时；
- d) 政府监管部门提出型式检验的要求时；
- e) 其他有必要进行检验时。

7.2 抽样

7.2.1 通则

按每一发酵罐菌液（或每批固体发酵或每批扩繁）加工成的产品为一批，进行抽样检验，抽样过程避免污染。

7.2.2 抽样工具

洁净塑料袋（瓶）、金属勺、抽样器、量筒、牛皮纸袋、胶水、抽样封条及抽样单等。

7.2.3 抽样方法和数量

一般在成品库中抽样，采用随机法抽取。

抽样以件为单位，小包装以每一包装箱为一件。随机抽取3~5件，每件中随机抽取一袋（瓶）；若每袋（瓶）包装小于500 g（mL）的产品，应多抽几件。大包装产品以一袋（桶）为一件，随机抽取3~5件，在洁净条件下，每件取样500 g（mL），然后将抽取样品充分混匀，混匀后的部分样品分装3袋（瓶），每袋（瓶）不少于500 g（mL）。

7.3 结果判定

7.3.1 本文件中质量指标合格判断，按照GB/T 8170中“修约值比较法”的规定执行。

7.3.2 技术指标和限量指标均符合要求的为合格产品。

7.3.3 当供需双方对产品质量发生异议需仲裁时，按有关规定执行。

8 包装、标识、运输和贮存

8.1 包装

根据不同产品剂型选择适当的包装材料、容器、形式和方法，以满足产品包装的基本要求。产品包装中应有产品合格证和使用说明书，在使用说明书中标明使用范围、方法、用量及注意事项等内容。

8.2 标识

应标明产品通用名称（微生物菌剂）、产品登记证中的有效菌种名称及主要技术指标、登记证号、执行标准、企业名称、生产地址、联系方式、生产日期或批号、包装规格、净含量、有效期等；可标注经注册登记的商标；宜标注二维码。

其余按照GB 18382的规定执行。

8.3 运输

运输过程中应有遮盖物，防止雨淋、日晒及高温。环境温度低于0℃时采取适当措施，以保证产品质量。轻装轻卸，避免包装破损。不应与对农用微生物菌剂有毒、有害的其它物品混装、混运。

8.4 贮存

产品应贮存在阴凉、干燥、通风的库房内，不应露天堆放，以防日晒雨淋，避免不良条件的影响。

附录 A

(规范性)

繁殖体数（内生菌根真菌孢子数）的测定
(湿筛倾注-蔗糖离心法)

A.1 适用范围

本方法适用于无法进行人工纯培养的内生菌根菌剂产品中繁殖体数(以内生菌根真菌孢子数计)的测定。

A.2 材料和试剂

- A.2.1 试验筛：筛框直径10 cm，筛孔孔径分别为0.25 mm、孔径0.045 mm。
- A.2.2 0.1 mL浮游生物计数框：面积20mm×20mm，框内划分横直各10行格，共100个小方格。每个计数小格面积为2 mm×2mm。
- A.2.3 锥形离心管：50 mL，具盖，带刻度。
- A.2.4 容量瓶：10 mL；25 mL。
- A.2.5 量筒。
- A.2.6 烧杯。
- A.2.7 移液枪或移液管：0.1 mL。
- A.2.8 蔗糖：分析纯。
- A.2.9 吐温80。
- A.2.10 蔗糖和吐温80混合液：称取204 g蔗糖置于500 mL烧杯中，加入100 mL去离子水，于75℃恒温条件下持续搅拌至蔗糖完全溶解后，加入1 mL吐温80，混合均匀，于2℃~8℃下冷藏过夜备用。

A.3 仪器和设备

- A.3.1 电子天平：精度为0.01 g。
- A.3.2 离心机。
- A.3.3 显微镜。

A.4 试样处理

- A.4.1 称取混合均匀的固体样品30 g（精确至0.01 g）放入烧杯中，加水浸泡20~30 min（可加入适量吐温80以浸泡充分）。颗粒样品可适当研磨，但研磨过程应尽量避免破坏菌根真菌孢子的完整性。量取混合均匀的液体样品30 mL放入烧杯中。
- A.4.2 将孔径0.25 mm的试验筛叠放在0.045 mm试验筛的上面。将固体试样浸泡液或液体试样全部转移至0.25 mm试验筛上。用自来水冲洗筛上物，直至下层0.045 mm试验筛流出清水为止。
- A.4.3 用去离子水将0.045 mm试验筛的筛上物全部转入50 mL锥形离心管中，盖紧管盖，于离心机上5000 r/min离心2 min，将悬浮液收集于烧杯中。
- A.4.4 向锥形离心管中加入蔗糖和吐温80混合液（A.2.10）至40 mL刻度线，盖紧管盖并充分混匀。于离心机上1200 r/min离心1 min，将悬浮液收集于同一烧杯中。重复此操作一次。
- A.4.5 将烧杯中悬浮液全部转移至0.045 mm的试验筛中，用自来水冲洗，洗掉蔗糖和吐温80混合液。将筛上物全部转移至容量瓶中，用去离子水定容至10 mL或25 mL，得待测液。

A.5 试样计数

A.5.1 观察计数

将待测液混匀（避免剧烈振荡），快速吸取0.1 mL滴到浮游生物计数框（A.2.2）内，铺满计数框，应避免产生气泡。静置1 min后，置于显微镜下观察、识别并记录整个计数框内目标内生菌根真菌孢子数。每个待测液需重复计数5次。试样处理和计数应在同一天完成。

A.5.2 计数原则

A.5.2.1 完整孢子、大半个孢子以及带有可辨识菌丝的半个孢子参与计数，其他碎片、杂质不予计数。

A.5.2.2 当0.1 mL待测液中的内生菌根真菌孢子数超过200个，或视野中杂质浓度对孢子计数有影响时，应对待测液适当稀释后重新计数。

A.6 结果计算与表示

试样中繁殖体数（内生菌根真菌孢子数） W （单位：个/g（mL））按公式（A.1）计算。

$$W = \frac{V_1 \times \bar{N} \times D}{V_2 \times m} \quad \text{或} \quad W = \frac{V_1 \times \bar{N} \times D}{V_2 \times V_0} \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

m ——固体试样质量，单位为克（g）；

V_0 ——液体试样体积，单位为毫升（mL）；

$\bar{N}$ ——待测液中5次重复测定内生菌根真菌孢子的平均数，单位为个；

V_1 ——待测液定容体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——观察体积，单位为毫升（mL）；

D ——稀释倍数。

以重复性条件下获得的2次独立测定结果的算术平均值作为测定结果，计算结果保留小数点后一位，数字修约与数据处理应符合GB/T 8170的规定。

A.7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

附 录 B
(规范性)
单细胞藻体数的测定

B.1 适用范围

适用于微小的单细胞或由单细胞聚集在一起的彼此间并无结构上联系的群体, 以及分裂后的细胞彼此连接形成的丝状体等形态的藻类细胞计数。

B.2 仪器和设备

- B.2.1 显微镜。
- B.2.2 血球计数板(25×16型)。
- B.2.3 载玻片: 面积76.2mm×25.4mm。
- B.2.4 盖玻片: 面积22mm×22mm, 厚度小于0.2 mm。
- B.2.5 滴管。
- B.2.6 烧杯。
- B.2.7 超声波细胞破碎仪: 输出功率300W。

B.3 试样处理

B.3.1 预检

取少量混匀的藻类试样于载玻片上, 加盖盖玻片后置于显微镜下观察, 若藻类细胞聚集成团或藻丝较长不易计数, 应按照B.3.2的规定对藻类试样进行超声处理。

B.3.2 超声处理

取混匀的藻类试样于烧杯中, 用超声波细胞破碎仪(B.2.7)进行超声处理, 在显微镜下观察, 确认试样中藻类成团细胞充分分散、成链藻丝断裂至适宜计数的长度。

B.4 试样计数

B.4.1 观察计数

将混匀的试样加入到已加盖盖玻片的血球计数板凹槽中, 使藻液充满凹槽。静置2~5 min后, 置于显微镜下观察、识别, 选取其中一个计数室以对角线法取5个中方格计数目标藻类细胞总数, 以上操作重复5次。试样处理和计数应在同一天完成。

B.4.2 计数原则

- 1) 对于压线的细胞计数采用数上线不数下线, 数左线不数右线原则。
- 2) 当每个中方格细胞数超过50个时, 应对藻液试样适当稀释后重新计数。

B.5 结果计算与表示

试样中单细胞藻体数 X (单位: 个/mL), 按照公式(B.1)计算。

$$X = \frac{\bar{A} \times D}{5 \times 16} \times 400 \times \frac{1000}{0.1} \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

$\bar{A}$ ——5次计数(每次计数取5个中方格)的藻体细胞总数的平均数, 个;

D ——稀释倍数;

- 5 ——计数中方格数量;
- 16 ——每个中方格的小方格总数;
- 400 ——计数室上小方格的总数;
- 1000 ——体积换算系数;
- 0.1 ——计数室的体积, μL 。

以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值作为测定结果,测定结果以科学记数法表示,保留小数点后两位,数字修约与数据处理应符合 GB/T 8170 的规定。

B.6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

参考文献

- [1] NY/T 1113—2006 微生物肥料术语
-