

新鲜猪沼液和牛沼液对农作物病原真菌抑制作用的比较研究

陶秀萍^{1,2}, 董红敏^{1,2*}, 尚斌^{1,2}, 陈永杏^{1,2}, 黄宏坤^{1,2}

(1.中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081 2.农业部农业环境与气候变化重点开放实验室, 北京 100081)

摘要 本试验在实验室条件下,研究大中型沼气工程猪沼和牛沼两种沼液原液及其离心上清液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、水稻纹枯病菌、玉米大斑病菌和玉米小斑病菌等7种农作物病原真菌的抑制作用。结果表明,猪沼原液和牛沼原液对其中的大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌和水稻纹枯病菌5种病原真菌具有较好的抑制作用,其菌丝生长抑制率均在72%以上,但对玉米大斑病菌和玉米小斑病菌的菌丝生长基本没有抑制作用;相比之下,猪沼和牛沼离心上清液对以上5种病菌的菌丝生长抑制作用明显减弱,除猪沼离心上清液对大豆菌核病菌的菌丝生长抑制率大于70%以外,试验中猪沼和牛沼离心上清液对实验病原菌的菌丝生长抑制率基本都在60%以下。试验结果显示猪沼液和牛沼液对农作物病原真菌具有潜在的植物病害防治作用,为养殖场大中型沼气工程沼液应用新技术的开发提供科学依据。

关键词 沼液; 农作物; 真菌; 抑制; 养殖废弃物

中图分类号 S216.4 文献标志码 A 文章编号: 1672-2043(2011)07-1443-07

Comparison of Inhibiting Effects Between Fresh Effluents of Anaerobically Digested Piggery Waste and Anaerobically Digested Dairy Waste on Plant Pathogenic Fungi

TAO Xiu-ping^{1,2}, DONG Hong-min^{1,2*}, SHANG Bin^{1,2}, CHEN Yong-xing^{1,2}, HUANG Hong-kun^{1,2}

(1. Institute of Environment & Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 2. The Key Laboratory for Agro-Environment & Climate Change, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China)

Abstract Fresh effluents from medium-to large-size biogas digesters with feedstock of piggery waste and dairy waste were collected separately to investigate the inhibitory effects on seven common plant pathogenic fungi, including *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizotonia cerealis*, *Bipolaris sorokinianum*, *Rhizoctonia solani*, *Exserohilum turcicum*, and *Bipolaris maydis* in a laboratory study. The anaerobic digester effluents of piggery waste (ADEP) and dairy waste (ADED) and their corresponding centrifuged supernatant liquid (CSL) were added into a 100 mL PDA culture medium at rate of 5% respectively, and evenly mixed when the temperature of PDA medium dropped to 45~50 °C. A pathogenic fungi patch of 5 mm diameter were planted on the medium center in Petri dishes, then incubated at a temperature of 25 °C or 28 °C for 7 days. The fungus colonies were measured using the vernier caliper every 24 h after fungus inoculation during entire testing period, and the inhibitory effects of ADEP, ADED and corresponding CSL on the fungi were calculated and compared. Both fresh ADEP and ADED originals exhibited distinct inhibitory effects on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizotonia cerealis*, *Bipolaris sorokinianum*, *Rhizoctonia solani*, with inhibitory rates more than 72%, but almost no inhibiting effects on the growth of *Exserohilum turcicum* and *Bipolaris maydis*; By contrast, both CSLs showed weaker inhibitory effects than the corresponding original effluents, the inhibitory rates of both CSLs on the five fungi were almost less than 60%, except that the inhibitory rate of the CSL of ADEP original on *Sclerotinia sclerotiorum* were observed more than 70%. The results implicated that anaerobic digester effluents had the potential of plant disease control, which might lead to the development of a new avenue for anaerobic digester effluents utilization.

Keywords anaerobic digester effluent; plant; fungus; inhibition; animal waste

收稿日期 2010-09-09

基金项目 亚洲银行农业废弃物利用特别研究项目(PRC-1924);“十一五”国家科技支撑计划课题(2006BAJ10B04);现代农业产业技术体系建设专项(CARS-36)

作者简介 陶秀萍(1969—),女,湖北武汉人,研究员,从事养殖废弃物处理技术研究。E-mail: taoxp@ieda.org.cn

* 通讯作者 董红敏 E-mail: dlonghm@ieda.org.cn

以厌氧消化为主要环节的沼气工程技术可回收养殖废弃物中 80% 的储存能量^[1], 生产热值较高的气体燃料——沼气, 该技术是目前规模化养殖场使用较多的废弃物处理技术之一。规模化养殖场大中型沼气工程在处理畜禽废弃物和获取可再生清洁能源的同时, 也伴生大量的厌氧发酵残留物, 即沼渣和沼液, 如果不予妥善处理, 将会导致“二次污染”, 因而严重制约了规模化养殖场沼气工程技术的发展。沼渣中含有丰富的氮、磷、钾等养分物质, 通常作为肥料进行农田利用^[2-3], 相比之下, 沼液中的有机质、氮、磷等养分浓度较低^[4], 但其中的多种生物活性物质使之具备其他的生物学功能。沼液浸种可提高玉米^[5]、水稻^[6-7]、棉花^[8]种子的发芽率和出苗率, 沼液喷施对小麦赤霉病^[9]和侵入初期棉花蚜虫^[10]有防治作用。张全国等^[11-12]对沼液复合型蚜虫杀虫剂进行了研究, 但研究中所使用的沼液主要来自小型户用沼气池^[5-7, 9, 11-12], 对养殖场大中型沼气池沼液的研究报道不多。

虽然沼液的抗病防虫作用已被公认, 但是国内有关沼液对农作物病原菌的抑制作用研究报道很少^[9-10, 13]。由于厌氧发酵原料不同对沼液的抗病功效有很大的影响^[11], 且沼液对植物病虫害的抑制作用因施用时间^[10]和病原^[13]不同有很大差别。为此, 本研究选用大中型沼气工程的猪沼液和牛沼液, 研究两种沼液原液和离心上清液对 7 种常见农作物病原真菌的抑制作用, 旨在为养殖场大中型沼气工程沼液综合利用新途径的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 沼液及离心上清液

猪沼液取自北京房山琉璃河某猪场 250 m³ 的猪粪沼气池, 牛沼液取自北京延庆旧县镇 400 m³ 的奶牛粪沼气池, 两沼气池均为升流式固体反应器 (USR) 运行正常。在沼气池出料时, 先用猪沼或牛沼将取样的容器清洗 3 遍, 再将容器盛装猪沼或牛沼运输回实验室, 取回当天进行试验。

制备离心上清液, 首先在灭菌过的离心管中加入适量的沼液原液, 10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 离心后的上清液取出备用, 原液装入和上清液取出离心管均在超净工作台完成。

1.2 植物病原真菌及培养基

大豆尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)、大豆菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*)、小麦纹枯病菌 (*Rhizoctonia cerealis*)、小麦根腐病菌 (*Bipolaris sorokiniana*)、

um)、水稻纹枯病菌 (*Rhizoctonia solani*)、玉米大斑病菌 (*Exserohilum turcicum*) 和玉米小斑病菌 (*Bipolaris maydis*) 均由中国农业科学院植物保护研究所提供。

病原真菌均使用马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基, 北京双旋微生物培养基制品厂生产。

1.3 试验方法

1.3.1 试验培养基制备

将 PDA 培养基经过 121 °C 灭菌 20 min, 自然冷却到 45~50 °C 时, 按照每 100 mL 培养基中添加 5 mL 的比例, 分别向盛有灭菌 PDA 培养基中加入沼液原液或离心上清液, 混合均匀后按 15 mL·皿⁻¹ 的量倒平皿 (直径 9 cm), 以灭菌纯水为对照, 添加比例相同。

对于每种病原菌, 沼液原液培养基和离心上清液培养基各倒 5 个平皿, 对照设 3 个重复。

1.3.2 病原真菌接种和培养

试验前 4~5 d, 将每种病原真菌分别接种 2~3 个 PDA 培养皿, 将接种了大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌和水稻纹枯病菌的 PDA 培养皿放入 25 °C 恒温培养箱培养, 将接种了小麦根腐病菌、玉米大斑病菌和玉米小斑病菌的 PDA 培养皿放入 28 °C 的恒温培养箱中培养, 作为供试菌种备用。

试验当天, 待沼液原液培养基、离心上清液培养基和对照培养基冷却后, 取出培养了 4~5 d 的供试菌种培养皿, 用直径 5 mm 的打孔器从供试菌种培养皿中的菌块边缘取大小相同的菌块, 倒扣接种于 13 个试验培养皿中间, 分别放入 25 °C 或 28 °C 的恒温箱中培养 7 d, 培养温度与供试菌种相同。如果病原真菌的生产速度快, 一旦对照组菌丝长满整个培养皿, 该病原菌的培养试验随即停止。

1.3.3 菌丝生长抑制率计算

试验培养皿接种病原真菌后, 随即放入恒温培养箱培养, 每隔 24 h 用游标卡尺测量试验培养皿中病原菌菌落的直径, 记数。菌丝生长抑制率按照以下公式进行计算:

抑制率 (%) = [(对照培养基上菌落直径 - 试验培养基上菌落直径) / 对照培养基上菌落直径] × 100%

2 结果与讨论

2.1 新鲜猪沼液原液及其离心上清液对农作物病原真菌的作用

大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、水稻纹枯病菌、玉米大斑病菌和玉米小斑病菌在猪沼原液及其离心上清液培养基上的生

长情况如表1所示。除玉米大斑病菌和玉米小斑病菌外,其他病菌在整个试验期的生长速度都显著低于对照($P<0.01$)。

猪沼原液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、水稻纹枯病菌、玉米大斑病菌和玉米小斑病菌的菌丝生长抑制率分别为68.6%~85.9%、79.5%~90.2%、53.5%~91.1%、69.0%~89.5%、70.2%~85.0%、-99.1%~0.0%和20.0%~51.0%。猪沼原液对大豆尖孢镰刀菌、小麦纹枯病菌和小麦根腐病菌的抑制作用持续增加,第7 d的菌丝生长抑制率可达到85%~91%;对大豆菌核病菌和水稻纹枯病菌的菌丝生长抑制率在第2 d最高,第3 d的抑制率有所下降,但与第2 d抑制率之差别小于0.6%,此两种病菌的抑制试验仅维持了3 d,因对照组病菌长满整个培养皿而终止,菌丝生长抑制率在第3 d下降的原因可能是培养皿限制了对照组病菌生长所致;对玉米大斑病菌表现出一定的生长刺激作用,对玉米小斑病菌的生长抑制作用不明显,虽然菌丝生长抑制率在

第4 d最大为51.0%,但在试验其他时间的抑制率均较小,加上该菌生长慢,因而基本不表现抑制作用。

猪沼离心上清液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌和水稻纹枯病菌的菌丝生长具有一定的抑制作用,试验期间的抑制率变化范围分别为32.0%~47.2%、72.3%~85.9%、40.8%~64.6%、42.5%~54.0%、52.4%~72.7%,但抑制率所表现的变化规律与猪沼原液有所不同。对小麦纹枯病菌和小麦根腐病菌的抑制作用在1周之内持续增加,但其抑菌率比猪沼原液低20%~35%;对大豆尖孢镰刀菌的抑制作用是先增加后降低,最大的菌丝生长抑制率出现在第3 d,但其抑制率比猪沼原液低35%~42%;对大豆菌核病菌和水稻纹枯病菌的试验同样维持了3 d,其最大抑菌率均出现在第2 d,虽然其抑制规律与猪沼原液相同,但其平均菌丝生长抑制率猪沼原液分别降低8%和20%,且第3 d的菌丝生长抑制率与第2 d相差较大,分别降低13.5%和20.4%;从菌丝生长抑制率看,猪沼离心上清液对玉米大斑病菌和玉米

表1 作物病原真菌在新鲜猪沼原液和离心上清液培养基上的生长状况(平均值±标准差)

Table 1 The colonies size of crop pathogenic fungi on the culture medium mixed with fresh anaerobic digester effluents of piggery waste and its centrifuged supernatant liquid(mean±SD)

病原真菌	猪沼原液	菌落的直径/cm						
		24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h
大豆尖孢镰刀菌	原液	0.63±0.02**	0.79±0.06**	0.88±0.05**	0.93±0.09**	0.96±0.13**	1.06±0.26**	1.27±0.55**
	离心上清液	1.36±0.12**	2.06±0.21**	2.66±0.23**	3.21±0.24**	3.83±0.22**	4.16±0.23**	4.74±0.50**
	对照	2.00±0.03	3.55±0.03	5.03±0.03	6.08±0.40	6.70±1.06	7.51±0.61	8.60±0.45
大豆菌核病菌 ^a	原液	0.50±0.00**	0.76±0.21**	0.93±0.43**	1.37±0.54	1.55±0.65	1.67±0.70	1.94±0.91
	离心上清液	0.11±0.10**	1.09±0.65**	2.47±1.36**	4.43±1.98	5.82±2.34	6.43±2.37	6.76±2.47
	对照	2.44±0.74	7.71±1.05	8.92±0.00				
小麦纹枯病菌	原液	0.52±0.01**	0.55±0.05**	0.55±0.04**	0.54±0.03**	0.53±0.01**	0.53±0.01**	0.48±0.15**
	离心上清液	0.66±0.09**	0.88±0.28**	1.15±0.48**	1.35±0.48**	1.45±0.55**	1.59±0.64**	1.90±0.83**
	对照	1.11±0.06	1.76±0.05	2.63±0.17	3.33±0.23	3.94±0.02	4.48±0.07	5.33±0.21
小麦根腐病菌	原液	0.55±0.01**	0.78±0.11**	0.76±0.08**	0.82±0.12**	0.84±0.12**	0.86±0.12**	0.89±0.16**
	离心上清液	1.02±0.05**	1.54±0.15**	2.22±0.36**	2.58±0.23**	3.03±0.29**	3.41±0.24**	3.95±0.24**
	对照	1.77±0.04	3.04±0.04	4.62±0.00	5.28±0.15	6.57±0.02	7.42±0.01	8.54±0.54
水稻纹枯病菌 ^b	原液	0.79±0.17**	1.01±0.30**	1.37±0.80**	1.86±0.31	1.95±0.31	2.15±0.46	2.16±0.47
	离心上清液	1.22±0.16**	1.84±0.18**	4.25±2.10*	4.55±1.99	6.09±2.97	6.48±2.89	6.66±2.86
	对照	2.65±0.09	6.77±0.28	8.92±0.00				
玉米大斑病菌	原液	0.60±0.00**	0.89±0.14	1.19±0.33	1.41±0.33	1.63±0.33	1.85±0.35	2.11±0.42
	离心上清液	0.52±0.01*	0.60±0.12	0.69±0.25	0.77±0.30	0.87±0.34	1.04±0.46	1.18±0.52
	对照	0.60±0.04	0.65±0.07	0.74±0.02	0.87±0.02	0.90±0.01	0.98±0.03	1.11±0.12
玉米小斑病菌	原液	0.51±0.02**	0.63±0.17	0.63±0.16*	0.67±0.14**	1.10±0.35	1.16±0.39	1.28±0.37
	离心上清液	0.59±0.04*	0.92±0.08	1.16±0.19	1.30±0.23	1.41±0.28	1.55±0.32	1.62±0.35
	对照	0.71±0.01	0.98±0.01	1.22±0.02	1.38±0.02	1.45±0.00	1.47±0.01	1.60±0.13

注:^a、^b对照培养基上病原真菌3 d长满培养皿,试验随即停止; *与对照组相比差异显著($P<0.05$); **与对照组相比差异极显著($P<0.01$)。

小斑病菌基本没有抑菌作用。

2.2 新鲜牛沼液及其离心上清液对农作物病原真菌的作用

大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、水稻纹枯病菌、玉米大斑病菌和玉米小斑病菌等 7 种植物病原真菌在牛沼原液培养基上的生长速度明显低于对照(见表 2),牛沼原液对以上 7 种植物病原真菌均表现出极显著的抑制作用($P<0.01$),牛沼上清液对大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌和玉米大斑病的病菌生长有极显著的抑制作用($P<0.01$),牛沼离心上清液对大豆尖孢镰刀菌有显著的生长抑制作用($P<0.05$)。

牛沼原液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、水稻纹枯病菌、玉米大斑病菌和玉米小斑病菌的抑菌率分别为 45.4%~86.7%、6.5%~94.2%、47.2%~85.1%、46.5%~92.4%、58.2%~92.0%、30.2%~56.6%和 5.6%~51.4%。牛沼原液对小麦根腐病菌的生长抑制作用持续增加,第 6 d 的抑制率达到

90%,对大豆菌核病菌和水稻纹枯病菌的抑制率在试验的 3 d 内也持续上升,第 3 d 的平均菌丝生长抑制率比第 2 d 分别增加 6.1%和 3.6%;对大豆尖孢镰刀菌、小麦纹枯病菌、玉米大斑病菌和玉米小斑病菌的抑制作用先增加后降低,对大豆尖孢镰刀菌和玉米大斑病菌的抑制作用在第 5 d 达到最大,而对小麦纹枯病菌和玉米小斑病菌的抑制作用则在第 6 d 达到最大,但对玉米小斑病菌前期基本没有抑制作用。

牛沼离心上清液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、水稻纹枯病菌、玉米大斑病菌和玉米小斑病菌等 7 种植物病原真菌的抑菌率分别为 0.0%~63.9%、6.5%~77.0%、25.7%~76.8%、5.5%~83.4%、26.1%~50.8%、4.2%~20.0%和-8.8%~38.8%,其作用规律也与牛沼原液不尽相同。尽管牛沼离心上清液对大豆尖孢镰刀菌、小麦根腐病菌和水稻纹枯病菌抑制作用持续增加,但与牛沼原液的抑制率相比,牛沼离心上清液的平均菌丝生长抑制率分别降低 31.3%、20.8%和 41.1%,对水稻纹枯病菌的抑制作用

表 2 作物病原真菌在新鲜牛沼原液及其离心上清液培养基上的生长情况(平均值±标准差)

Table 2 The colonies size of crop pathogenic fungi on the culture medium mixed with fresh anaerobic digester effluents of dairy waste and the centrifuged supernatant liquid(mean±SD)

病原真菌	牛沼原液	菌落的直径/cm						
		24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h
大豆尖孢镰刀菌	原液	0.53±0.04**	0.68±0.16**	0.71±0.11**	0.77±0.17**	0.82±0.25**	1.29±0.70**	1.29±0.70**
	离心上清液	0.99±0.03	1.57±0.43	1.92±0.78	2.13±1.17*	2.45±1.54*	2.62±1.69*	2.76±1.91*
	对照	0.98±0.11	2.12±0.25	3.16±0.08	4.81±0.86	6.13±1.27	6.96±1.53	7.63±1.32
大豆菌核病菌 ^a	原液	0.50±0.00**	0.50±0.00**	0.50±0.00**	0.50±0.00	0.52±0.01	0.54±0.02	0.59±0.05
	离心上清液	0.50±0.00**	0.96±0.29**	2.01±1.17**	2.20±1.58	2.32±1.69	2.32±1.70	2.37±1.68
	对照	0.54±0.02	4.18±0.52	8.56±0.00				
小麦纹枯病菌	原液	0.59±0.07**	0.68±0.10	0.64±0.09**	0.64±0.08**	0.68±0.19**	0.72±0.26**	0.82±0.26**
	离心上清液	0.83±0.10*	0.94±0.24	0.99±0.22**	1.01±0.32**	1.04±0.32**	1.12±0.46**	1.13±0.47**
	对照	1.12±0.04	1.29±0.87	2.80±0.00	3.49±0.00	4.21±0.01	4.83±0.04	4.49±1.31
小麦根腐病菌	原液	0.51±0.00**	0.55±0.05**	0.55±0.03**	0.61±0.07**	0.61±0.10**	0.61±0.12**	0.63±0.14**
	离心上清液	0.90±0.06	1.11±0.14**	1.19±0.19**	1.22±0.17**	1.26±0.17**	2.52±2.63	1.38±0.28**
	对照	0.95±0.08	2.23±0.01	3.59±0.01	4.79±0.01	5.87±0.13	6.59±0.00	8.29±0.48
水稻纹枯病菌 ^b	原液	0.62±0.13**	0.63±0.12**	0.68±0.11**	0.70±0.15	0.64±0.06	0.71±0.10	0.66±0.09
	离心上清液	1.09±0.39	3.35±1.17	4.22±2.02*	4.74±2.24	4.85±2.26	5.21±2.55	5.42±2.78
	对照	1.48±0.49	5.44±0.04	8.56±0.00				
玉米大斑病菌	原液	0.62±0.04**	0.66±0.04**	0.67±0.03*	0.69±0.04**	0.71±0.02**	0.73±0.04**	0.73±0.04**
	离心上清液	0.92±0.05	1.10±0.20	1.12±0.22	1.27±0.23	1.40±0.33	1.41±0.33	1.42±0.31
	对照	0.89±0.15	1.24±0.37	1.40±0.58	1.58±0.42	1.68±0.32	1.69±0.31	1.69±0.31
玉米小斑病菌	原液	0.51±0.00**	0.65±0.04	0.63±0.06*	0.65±0.06**	0.68±0.07**	0.77±0.13**	0.96±0.08**
	离心上清液	0.54±0.01	0.75±0.01	0.86±0.03	0.93±0.05	0.97±0.22	1.06±0.23	1.08±0.25*
	对照	0.54±0.01	0.72±0.04	0.90±0.015	1.00±0.03	1.20±0.11	1.54±0.06	1.71±0.08

注:^{a,b}对照培养基上病原真菌 3 d 长满培养皿,试验随即停止;与对照组相比差异显著($P<0.05$);*与对照组相比差异极显著($P<0.01$)。

表现在试验的第3 d,也是此病菌试验的最后1 d,对大豆菌核病菌和小麦纹枯病菌的抑制作用先增加后降低,对大豆菌核病菌的菌丝生长抑制率在第2 d最大,第3 d下降约0.5%,可能因为该试验仅持续了3 d,试验容器在第3 d限制了对照组菌丝生长所致,对小麦纹枯病菌在前2 d基本无抑制作用,后期抑制作用较好并在第6 d表现最大抑制率,对玉米大斑病菌和玉米小斑病菌基本没有抑制作用。

2.3 新鲜沼液原液及其离心上清液对病原真菌的菌丝生长抑制率比较

新鲜猪沼和牛沼原液及其对应的离心上清液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌和水稻纹枯病菌的平均菌丝生长抑制率如表3所示。新鲜沼液原液对5种病菌的生长抑制作用均高于沼液离心上清液,其中猪沼原液对大豆尖孢镰刀菌、小麦纹枯病菌和小麦根腐病菌3种病菌的菌丝生长抑制率显著高于猪沼离心上清液($P<0.01$);牛沼原液对大豆尖孢镰刀菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌和水稻纹枯病菌的菌丝生长抑制率显著高于其离心上清液($P<0.01$)对相应农作物病原真菌的菌丝生长抑制率。小麦根腐病菌在试验新鲜猪沼原液培养基、新鲜猪沼离心上清液培养基和对照培养基上的菌落生长情况如图1所示。

沼液中有极为丰富的微生物,单是芽孢杆菌就有很多种类^[14],沼液中的微生物及其分泌的活性物质对植物的许多有害病菌和虫卵具有一定的抑制和杀灭作用^[15]。从图1可见沼液原液培养皿中散在生长了很多其他的菌落,这些来自沼液原液的微生物中不乏芽孢杆菌等拮抗菌,拮抗菌及其分泌的活性物质对病原真菌具有很好的抑制作用,但沼液原液经过离心后,其上清液中的拮抗菌很少,甚至完全被去除,无疑是使离心上清液抑菌作用下降的原因之一。猪沼离心上

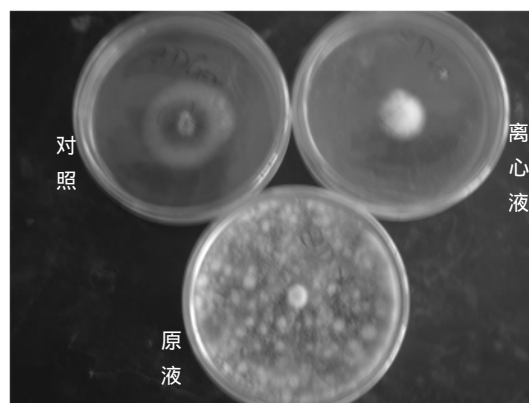


图1 新鲜猪沼原液、离心上清液和对照培养基上接种小麦根腐病菌后的菌落生长情况

Figure 1 The colony growth situations of *Bipolaris sorokiniana* on PDA culture medium mixed with fresh anaerobic digester effluents of piggery waste and its centrifuged supernatant liquid and control medium

清液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌和水稻纹枯病菌的平均菌丝生长抑制率分别为猪沼原液抑制率的52.7%、91.0%、72.4%、61.8%和74.6%;牛沼离心上清液对5种病菌的平均菌丝生长抑制率分别为牛沼原液抑制率的58.3%、84.8%、82.4%、74.3%和48.3%。由此推断,沼液中的可溶性抑菌物质是导致植物病原真菌生长抑制的主要因素。

2.4 新鲜猪沼和牛沼原液及其离心上清液对农作物病原真菌的抑制作用比较

猪沼原液和牛沼原液对以上5种病原菌均具有较好的生长抑制作用,相比之下,猪沼原液的平均菌丝生长抑制率较牛沼原液的高,但除小麦纹枯病菌外,两种沼液对其他4种病原真菌作用的差异不显著。猪沼原液和牛沼原液之间的差异,可能是由于猪沼液和牛沼液的发酵原料不同,沼液中所含物质或微

表3 新鲜猪沼液和牛沼液对农作物病原真菌的平均抑制作用

Table 3 The average inhibiting effects of fresh anaerobic digester effluents of piggery waste and dairy waste on crop pathogenic fungi

病原真菌	周平均菌丝生长抑制率/%					
	猪沼原液	牛沼原液	P值	猪沼离心上清液	牛沼离心上清液	P值
大豆尖孢镰刀菌	81.5±6.4 ^a	75.2±14.5 [*]	0.087	42.9±5.2 ^b	43.9±23.9 [†]	0.909
大豆菌核病菌 [*]	86.4±6.0	62.9±48.9	0.443	78.6±6.8	53.3±40.5	0.309
小麦纹枯病菌	78.7±13.3 ^a	72.0±17.1 [*]	0.046	57.0±8.9 ^b	59.3±22.9 [†]	0.608
小麦根腐病菌	82.3±7.8 ^a	80.9±16.2 [*]	0.700	50.9±4.1 ^b	60.1±26.5 [†]	0.328
水稻纹枯病菌 [*]	80.0±8.4	79.6±18.6 [*]	0.954	59.6±11.4	38.4±12.3 [†]	0.168

注:对照菌落3 d长满平皿,试验随即停止。表中数值为3 d平均值,每行上标不同字母(a、b)表示猪沼液及其离心上清液之间的抑制率差异极显著($P<0.01$),每行上标不同字母(s、t)表示牛沼液及其离心上清液之间的抑制率差异极显著($P<0.01$)。

生物不同而导致其对病原真菌的抑制作用差异,本试验对所用猪沼原液和牛沼原液中总磷、凯氏氮、氨氮、COD 含量和 pH 值分别为 $(30.4 \pm 6.6) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(57.6 \pm 1.3) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $(1\ 624.7 \pm 207.2) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(471.6 \pm 124.1) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $(1\ 536.6 \pm 15.9) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(302.0 \pm 77.3) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $(3\ 037.8 \pm 660.9) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(2\ 441.1 \pm 813.6) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以及 7.2 ± 0.0 和 7.1 ± 0.1 , 其中两种沼液之间的总磷和总凯氏氮含量差异显著 ($P < 0.05$), 氨氮含量差异极显著 ($P < 0.01$)。猪沼对病原真菌较强的生长抑制作用可能是其中较高的氨含量所致^[16], 也可能是牛沼液中的碳和氮的比值较高, 更适合病原菌生长; 另外猪沼原液和牛沼原液中所含的拮抗菌也可能导致菌丝生长抑制率差异, 尚待进一步研究。

猪沼离心上清液对大豆菌核病菌和水稻纹枯病菌这两种试验持续时间较短(仅 3 d)的病菌的生长抑制率较牛沼离心上清液高, 但差异不显著, 两种离心上清液对其他 3 种病原真菌的菌丝生长抑制率相近, 可能猪沼中所含颗粒状营养或抑菌物质较多, 经过离心处理后, 所去除的营养或抑菌物质较牛沼多, 使其对各病原真菌的生长抑制作用下降幅度较大, 从而使其对菌丝生长抑制率接近牛沼离心液。

3 结论

沼液原液及其离心上清液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病、小麦根腐病菌和水稻纹枯病菌的菌丝生长均有一定的抑制作用, 且两种原液对这些病菌的抑制作用均强于其对应的离心上清液, 但对玉米大斑病菌和玉米小斑病菌的菌丝生长基本没有抑制作用。猪沼原液对大豆尖孢镰刀菌、大豆菌核病菌、小麦纹枯病、小麦根腐病菌和水稻纹枯病菌的菌丝生长抑制率较牛沼原液的高, 但除小麦纹枯病菌外, 两种原液之间的抑制作用差异不显著, 猪沼和牛沼离心上清液对此 5 种病菌的生长抑制作用均无显著差异。

本试验是在实验室条件下进行的, 其结果为农作物真菌病的沼液原液防治技术开发提供了依据, 但其田间防治方法以及防治效果尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 采用沼气工程技术处理和利用畜禽粪便的模式[R/OL]/2007-07-08, <http://www.65et.com/sw/1/200707084393.html>
The mode of animal manure treatment and utilization by biogas engineering technology[R/OL]/July 8, 2007. <http://www.65et.com/sw/1/200707084393.html>.
- [2] 兰家泉, 田启建, 罗来和, 等. 玉米栽培施用沼渣沼液的肥效试验[J]. 山地农业生物学报, 2004, 23(6): 475-478.
LAN Jia-quan, TIAN Qi-jian, LUO Lai-he, et al. The experiment of fertilizer effect of biogas manure in growing corn[J]. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 2004, 23(6): 475-478.
- [3] 林 斌. 菌、糠、沼渣有机肥对脐橙产量和品质的影响[J]. 福建农业学报, 2006, 21(3): 293-295.
LIN Bin. Effecting of spent mushroom substrates(SMS) and biogas residue on improving navel orange production and its fruit quality[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2006, 21(3): 293-295.
- [4] 叶北朝, 胡 润, 康启忠, 等. 沼肥对早稻经济性状、产量及品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(4): 1072-1073.
YE Bei-chao, HU Run, KANG Qi-zhong, et al. Effects of biogas manure on economic trait, yield and quality of early rice[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(4): 1072-1073.
- [5] 戴小阳, 蔡 斯, 彭 琼, 等. 沼液对玉米种子的发芽及生理特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(6): 1679-1680, 1741.
DAI Xiao-yang, CAI Si, PENG Qiong, et al. Effect of biogas fluid on germination and physiological characteristics of maize[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(6): 1679-1680, 1741.
- [6] 丁肖兰. 沼液浸种对水稻秧苗和产量影响效果试验[J]. 中国稻米, 2007(5): 39-40.
DING Xiao-lan. Effects of rice seed soaked with remains from marsh gas pool on rice seedling and rice production[J]. *China Rice*, 2007(5): 39-40.
- [7] 陈仙平, 曹群芳. 沼液浸种在早稻生产中的应用试验[J]. 河北农业科学, 2008, 12(10): 13-14.
CHEN Xian-ping, CAO Qun-fang. The application of biogas slurry soaking seed on early rice production[J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2008, 12(10): 13-14.
- [8] 杨 闯, 徐文修, 李钦钦, 等. 沼液浸种对陆地棉生长及产量的影响[J]. 新疆农业科学, 2009, 46(1): 138-141.
YANG Chuang, XU Wen-xiu, LI Qin-qin, et al. Effect of biogas slurry soaking seed on growth and yield of upland cotton[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2009, 46(1): 138-141.
- [9] 南香菊, 张润蓉, 段怀明. 沼液对小麦赤霉病的防治探索 [J]. 山西农业科学, 2008, 36(11): 109-111.
NAN Xiang-ju, ZHANG Run-rong, DUAN Huai-ming. Control of wheat gibberellin by methane pit liquid[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2008, 36(11): 109-111.
- [10] 王春华, 徐文修, 陈 明, 等. 喷施沼液对棉花新陆早 13 号蚜虫数量动态的影响[J]. 新疆农业大学学报, 2009, 32(2): 45-48.
WANG Chun-hua, XU Wen-xiu, CHEN Ming, et al. Impact of spraying biogas slurry for on the population dynamics of Aphid with Xinluzao 13 of cotton in Xinjiang[J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2009, 32(2): 45-48.
- [11] 张全国, 李鹏鹏, 倪慎军, 等. 沼液复合型杀虫剂研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(6): 157-160.
ZHANG Quan-guo, LI Peng-peng, NI Shen-jun, et al. Experimental study on compound pesticide composed by the anaerobic fermentation slurry and additives[J]. *Transactions of the CSAE*, 2006, 22(6): 157-160.

- 160.
- [12] 张全国, 周雪花, 李鹏鹏, 等. 沼液复合型杀虫剂的有效期和生态环保性能[J]. 农业工程学报, 2008, 24(8) :219-222.
- ZHANG Quan-guo, ZHOU Xue-hua, LI Peng-peng, et al. Periods of validity and eco-friendly characteristics of compound pesticide composed by the anaerobic fermentation slurry and additives[J]. *Transactions of the CSAE*, 2008, 24(8) :219-222.
- [13] 尹芳, 张无敌, 宋洪川, 等. 沼液对某些植物病原菌抑制作用的研究[J]. 可再生能源, 2005(2) :9-11, 36.
- YIN Fang, ZHANG Wu-di, SONG Hong-chuan, et al. Research on bacteriostatic activity of biogas broth on plant pathogenic microbes[J]. *Renewable Energy*, 2005(2) :9-11, 36.
- [14] 金家志, 邵凤君. 沼液中芽孢杆菌对雏鸡生长的促进作用[J]. 农业环境与发展, 1996, 13(4) :13-14.
- JIN Jia-zhi, SHAO Feng-jun. The promoting effects of *Bacillus* spp. in biogas slurry on the growth performance of chicks[J]. *Agro-environment & Development*, 1996, 13(4) :13-14.
- [15] 王惠霞, 张坐省. 沼液中的化学物质及在农业生产上的应用[J]. 陕西农业科学, 2006(3) :89-91.
- WANG Hui-xia, ZHANG Zuo-sheng. Application of liquid biogas residue in agricultural production [J]. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 2006(3) :89-91.
- [16] 王远远, 刘荣厚. 沼液综合利用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(4) :1089-1091.
- WANG Yuan-yuan, LIU Rong-hou. Progress of comprehensive utilization of biogas slurry[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(4) :1089-1091.