

牛场沼液对几种蔬菜病原菌抑制作用的研究

尚 斌,陶秀萍,陈永杏,董红敏*,黄宏坤

(中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所,农业部畜牧环境设施设备质量监督检验测试中心(北京),农业部农业环境与气候变化重点实验室,北京 100081)

摘 要 实验室条件下,用不同贮存时间的牛场沼液原液和滤液对 7 种蔬菜病原菌(番茄叶霉病菌、番茄灰霉病菌、番茄早疫病菌、辣椒疫病病菌、辣椒绵腐病菌、黄瓜炭疽病菌、茄子灰霉病菌)的抑菌效果进行试验研究,为沼液应用于蔬菜病害农田防治的进一步研究提供基础数据。结果表明,新鲜沼液原液对番茄灰霉病菌、番茄早疫病菌、辣椒疫病病菌、辣椒绵腐病菌、黄瓜炭疽病菌和茄子灰霉病菌均有较强的抑制作用,随着贮存时间的增加,沼液原液对番茄灰霉病菌、番茄早疫病菌、黄瓜炭疽病菌和茄子灰霉病菌的抑菌率没有显著变化,对辣椒疫病病菌和辣椒绵腐病菌的抑菌率显著下降,新鲜沼液滤液对番茄灰霉病菌和茄子灰霉病菌有较好的抑制作用,但对其他 5 种病原菌的抑制效果不明显,随着贮存时间的增加,滤液对番茄灰霉病菌的抑菌率没有显著变化,对茄子灰霉病的抑制率表现出先显著下降而后升高的趋势。

关键词 沼液;蔬菜病害;微生物;抑制;环境保护

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2011)04-0753-08

Inhibitory Effect of Biogas Slurry of Cattle Manure on Vegetable Pathogens

SHANG Bin, TAO Xiu-ping, CHEN Yong-xing, DONG Hong-min*, HUANG Hong-kun

(Institute of Agricultural Environment and Sustainable Development, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Animal Environmental Facility Surveillance, Inspection and Testing Center(Minister of Agriculture), Key Laboratory for Agro-Environment and Climate Change(Minister of Agriculture), Beijing 100081, China)

Abstract The inhibitive effects of cattle manure biogas slurry stored for certain time on 7 vegetable pathogens named *Fulvia fulva*, *Botrytis cinerea* pers, *Aletaria solani*, *Phytophthora capsici* Len, *Pythium aphanidermatum*, *Glomerella cingulata* Var, *orbicularis* Jenkins, W. et Mc Combs, *Botrytis cinerea*, were studied in vitro using plate diffusion method. Results showed that the fresh original biogas slurry could strongly inhibit the growth of *Botrytis cinerea* pers, *Aletaria solani*, *Phytophthora capsici* Len, *Pythium aphanidermatum*, *Glomerella cingulata* Var, *orbicularis* Jenkins, Winstead et Mc Combs, *Botrytis cinerea*, and all the average inhibitory rates were more than 44.1%. With the storage time prolonged, the inhibitory rates on *Botrytis cinerea* pers, *Aletaria solani*, *Glomerella cingulata* Var, *orbicularis* Jenkins, Winstead et Mc Combs and *Botrytis cinerea* had no significant changes, while the inhibitory rates on *Phytophthora capsici* Len and *Pythium aphanidermatum* decreased significantly. The fresh filtrate of biogas slurry had obvious inhibitory effects on *Botrytis cinerea* pers and *Botrytis cinerea* (the average inhibitory rates were 54.9% and 44.6% correspondly), while the weak inhibitory effects on the other 5 vegetable pathogens (the average inhibitory rate was less than 26.4%). And with the increased of storage time, the inhibitory rate on *Botrytis cinerea* pers had no significant changes while the inhibitory rate on *Botrytis cinerea* showed increasing trend after a significant decline. The data can provide evidences for the application of biogas slurry for vegetable diseases control.

Keywords biogas slurry; vegetable diseases; microbe; inhibition; environment protection

沼液是有机废弃物经厌氧发酵产沼气后留下的残留液,是沼气生产过程中的一种重要副产品。沼液

中含有丰富的矿物质元素、维生素、蛋白酶以及氨基酸等多种营养成分^[1-5],已被证明用于植物肥料^[6-11]以及动物饲喂^[12]上从而提高作物产量、改善农产品品质等方面具有很好的利用价值。此外,由于沼液本身含有吡啶乙酸、乳酸菌、叶枯酸、植物激素以及氨和铵盐等成分,可用于杀死或抑制各种表面的病菌^[1,13]。因此,关于沼液用于植物病虫害防治的研究也成为众多学者研究的热点^[14-17]。

收稿日期 2010-08-25

基金项目:亚洲银行项目(PC1924);国家科技支撑计划项目(2006BAJ10B00)

作者简介:尚 斌,男,研究方向为农业废弃物处理及资源化利用。

E-mail: shangbin@ieda.org.cn

* 通讯作者:董红敏 E-mail: dlonghm@mail.caas.net.cn

目前,许多科研工作者进行了沼液抑制烟草赤星病菌、稻瘟病菌、甘薯黑斑病菌、三七镰刀菌、香石竹镰刀菌、百合镰刀菌、瓜果腐霉、西芹细菌、石榴病菌、禾谷镰刀菌的试验研究,其结果表明,沼液对某些植物病原真菌有较强的抑制效果^[1,4-15,18],具有进一步开发应用的潜力,但关于沼液应用于蔬菜类病菌抑制方面的研究还未见有报道。本文选择对蔬菜(番茄、辣椒、黄瓜、茄子)有较大影响的 7 种主要病原菌(番茄叶霉病菌、番茄灰霉病菌、番茄早疫病病菌、辣椒疫病病菌、辣椒绵腐病菌、黄瓜炭疽病菌、茄子灰霉病菌)进行沼液抑菌的试验,分别研究了不同贮存时间(新鲜、贮存 14 d 和贮存 30 d)的牛场沼液对这 7 种病原菌的抑制效果,为进一步研究沼液抑制病原菌机理打下理论基础,同时也为沼液应用于农田蔬菜病害防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 沼液

沼液取自北京市延庆县旧县镇西龙湾村沼气站,系统运行正常,主要发酵原料为牛粪。

1.1.2 菌种

番茄叶霉病菌、番茄灰霉病菌、黄瓜炭疽病菌和番茄早疫病病菌由中国农业科学院植物保护研究所提供,辣椒疫病病菌由中国农业大学提供,辣椒绵腐病菌、茄子灰霉病菌由中国农业科学院农业资源与农业区划研究所国家农业微生物菌种保藏中心提供。

1.1.3 培养基

番茄叶霉病菌、番茄灰霉病菌、番茄早疫病病菌、辣椒绵腐病菌、黄瓜炭疽病菌、茄子灰霉病菌试验采用马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基。

辣椒疫病病菌试验使用的培养基为自制的胡萝卜培养基,其具体制作方法为:将 200 g 新鲜胡萝卜切成小片,加纯净水 500 mL,加热直至胡萝卜煮熟变软,用双层纱布过滤去渣,补水至 1 000 mL,再加入琼脂粉 17 g,煮沸 5 min,121 ℃灭菌 20 min,待灭菌的胡萝卜培养基冷却到 45 ℃左右向盛放培养基的三角烧瓶中加入少许注射用青霉素粉,混匀。

1.2 试验方法

1.2.1 沼液贮存处理

将沼液在室温下贮存 0、14、30 d,供试验用。

1.2.2 沼液滤液的制备

每次试验时,在超净工作台中取适量的沼液于已

灭菌过的离心管中,10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液过滤,备用。

1.2.3 供试病原菌的培养

(1)番茄叶霉病菌的培养

用三角烧瓶盛 50 mL 纯水经过 121 ℃灭菌 20 min,冷却后,用接种环剥离叶霉孢子并放入灭菌纯水中,加入灭菌的玻璃珠,反复摇晃,将叶霉孢子打散并使其分散均匀,备用。

(2)其他 6 种真菌的培养

将已接种供试菌的 PDA 培养基平皿放入恒温箱培养 4~5 d,备用。

1.2.4 抑菌试验操作

新鲜沼液处理组试验于沼液取回当日进行,贮存 14 d 和 30 d 处理组试验分别于沼液取回后第 14 d 和 30 d 进行。

(1)番茄叶霉病菌抑制试验

将 PDA 培养基经 121 ℃灭菌 20 min,自然冷却到 45 ℃左右,取 5 mL 叶霉孢子加入到 100 mL PDA 培养基中,混合均匀后倒平皿。待平皿中培养基凝固后,将已灭菌的钢圈(内径 0.58 cm,高 1 cm)放入平皿中部,向钢圈中分别加入沼液原液、滤液,以无菌水为对照,将平皿放入 28 ℃的恒温箱中培养。每隔 24 h 测量培养基平皿中钢圈周围白色抑菌圈的直径,记数,共培养 7 d。每个处理组 5 个平行。

(2)其他 6 种真菌抑制试验

将培养基经 121 ℃灭菌 20 min,自然冷却到 30~40 ℃时,按照每 100 mL 培养基中添加 5 mL 的比例,分别向盛有培养基的三角烧瓶中加入原沼液、滤液,以无菌水为对照,混合均匀后倒平皿。待平皿中培养基凝固后,用已灭菌的打孔器(直径 5 mm)取相同大小的菌块,分别接于不同的培养基平皿中部。将平皿放入恒温箱中培养,每隔 24 h 测量培养基平皿中病原菌菌落的直径,记数,共培养 7 d。原液处理和滤液处理组各 5 个平行,对照组 2 个平行。

1.2.5 抑菌效果分析方法

(1)番茄叶霉病菌抑制试验

番茄叶霉病菌抑制试验中,根据培养基平皿中钢圈周围白色抑菌圈的直径大小来判断抑菌的效果,与对照处理组相比,平皿中抑菌圈直径越大,说明该处理抑菌效果越明显。

(2)其他 6 种真菌抑制试验

根据培养平皿中病原菌的直径大小来分析对该病菌的抑制效果,与对照处理组相比,平皿中病原菌

直径越小,说明该处理抑菌效果越明显。

2 结果与讨论

2.1 牛场沼液对蔬菜病原菌的抑制效果

2.1.1 牛场沼液对番茄叶霉病菌的抑制效果

测量沼液对番茄叶霉病菌的抑制效果试验中各处理培养皿上抑菌圈的直径大小,结果见表 1。由表 1 可见,培养 2 d 后,新鲜沼液原液对番茄叶霉菌表现出抑制作用,随着培养时间的增加,抑菌圈直径不断扩大,于第 5 d 达到峰值,随后有缩小的趋势,但仍表现出一定的抑菌性,新鲜沼液滤液对番茄叶霉菌的抑制作用与新鲜沼液原液相似,也是在试验开始 2 d 后表现出抑菌作用,但培养 7 d 后的抑菌圈直径仅为 3.7 cm,抑菌作用不明显。

贮存 14 d 沼液原液和沼液滤液对番茄叶霉菌的抑菌试验中,培养 7 d 后抑菌圈的直径分别为 1.9~4.1 cm 和 1.2~1.6 cm,抑制作用不明显。

从试验结果可以发现,新鲜沼液和滤液对番茄叶霉菌有一定的抑制作用,而贮存沼液的抑制效果不佳。

2.1.2 牛场沼液对番茄灰霉病菌的抑制效果

由表 2 可见,沼液对番茄灰霉菌抑菌试验中,新鲜沼液原液和滤液处理组菌块生长缓慢,7 d 后仅分

别增长 0.1 cm 和 0.2 cm,而对照组菌块直径则增长 4.1 cm,生长迅速,说明新鲜原液和新鲜滤液对番茄灰霉病菌均具有强烈的抑制作用。

贮存 14 d 和 30 d 沼液的抑菌试验中,对照处理中菌块生长速度较快,7 d 后菌块直径分别长至 6.5 cm 和 6.2 cm,而其他处理组的病菌直径变化较小,直径均低于 0.8 cm,说明贮存沼液原液和滤液对番茄灰霉菌仍具有较强的抑制作用。

2.1.3 牛场沼液对番茄早疫病菌的抑制效果

由表 3 可见,新鲜沼液的抑菌试验中,沼液原液和新鲜滤液处理组的菌块 7 d 后分别增长 0.4 cm 和 2.1 cm,而对照处理中细菌直径则增长 4.8 cm,说明新鲜沼液和新鲜滤液对番茄叶霉菌都有极强的抑制作用,而新鲜沼液原液的抑菌效果优于新鲜滤液。

贮存 14 d 沼液原液和滤液对番茄早疫病菌的抑制试验中,培养 7 d 后,对照处理菌块直径由 0.5 cm 长至 6.0 cm,贮存 14 d 沼液原液和滤液处理中细菌直径则由 0.5 cm 分别生长至 1.1 cm 和 3.3 cm。说明贮存 14 d 沼液原液和滤液都有一定的抑菌作用,但滤液效果不如原液明显。贮存 30 d 沼液的抑制试验结果也表现出相似的规律,即贮存 30 d 沼液原液和滤液对番茄早疫病都具有一定的抑菌作用,但原液抑菌效果优于滤液。

表 1 PDA 平板上番茄叶霉病菌抑制圈的直径(cm)

Table 1 The diameter of inhibition zone of *Fulvia fulva* on PDA medium(cm)

处理	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
新鲜沼液原液	0.5±0.0	2.4±1.2	3.8±2.3	3.8±2.2	5.6±1.3	4.4±2.6	4.8±2.7
新鲜沼液滤液	0.5±0.0	0.8±0.1	1.6±1.6	2.4±2.7	3.4±4.5	3.6±4.3	3.7±4.3
对照	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
贮存 14 d 沼液原液	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4	2.1±0.4	2.8±1.2	4.1±0.9
贮存 14 d 沼液滤液	1.2±0.6	1.5±0.3	1.6±0.3	1.6±0.3	1.6±0.2	1.6±0.2	1.6±0.2
对照	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

表 2 番茄灰霉病菌在 PDA 平板上的生长直径(cm)

Table 2 The growth diameter of *Botrytis cinerea* pers on the PDA medium(cm)

处理	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
新鲜沼液原液	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.6±0.1	0.6±0.0
新鲜沼液滤液	0.5±0.0	0.5±0.0	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1
对照	0.5	1.5	2.3	3.6	3.7	4.2	4.6
贮存 14 d 沼液原液	0.5±0.0	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
贮存 14 d 沼液滤液	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.7±0.0	0.7±0.0	0.7±0.0
对照	0.5	0.6	2.5	3.7	4.5	5.6	6.5
贮存 30 d 沼液原液	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1
贮存 30 d 沼液滤液	0.5±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1
对照	0.6	0.6	2.6	3.9	4.9	5.5	6.2

表 3 番茄早疫病菌在 PDA 平板上的生长直径(cm)

Table 3 The growth diameter of *Aletnaria solani* on the PDA medium(cm)

处理	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
新鲜沼液原液	0.6±0.0	0.6±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1	0.7±0.2	0.8±0.1	0.9±0.2
新鲜沼液滤液	0.8±0.0	1.3±0.2	1.5±0.3	1.7±0.5	2.1±0.7	2.4±1.0	2.6±1.1
对照	0.8	1.3	2.6	3.2	3.9	4.7	5.3
贮存 14 d 沼液原液	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.2	1.1±0.2	1.1±0.1	1.1±0.1	1.1±0.2
贮存 14 d 沼液滤液	1.2±0.1	1.8±0.1	2.2±0.2	2.6±0.3	2.8±0.4	3.2±0.6	3.3±0.7
对照	1.3	2.4	3.3	4.1	4.9	5.7	6.0
贮存 30 d 沼液原液	0.8±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	1.0±0.1	1.0±0.0
贮存 30 d 沼液滤液	1.1±0.0	1.5±0.3	1.7±0.5	2.1±0.8	2.4±0.9	2.8±1.2	3.0±1.3
对照	1.2	1.8	2.3	3.3	3.8	4.5	4.8

2.1.4 牛场沼液对辣椒疫病菌的抑制效果

由表 4 可见,在新鲜沼液对辣椒疫病菌的抑制试验中,对照处理组中菌块在 7 d 后长满整个平皿,而新鲜沼液原液中菌块直径 7 d 后仅长至 1.1 cm,抑菌作用强烈。试验发现,新鲜沼液滤液中菌块生长速度比对照处理稍快,说明沼液滤液对辣椒疫病菌没有抑制作用。

与新鲜沼液相比,贮存 14 d 和贮存 30 d 沼液原液对辣椒疫病菌仍具有一定的抑制效果,但效果弱于新鲜沼液,而贮存 14 d 和贮存 30 d 沼液滤液对辣椒疫病菌则没有抑制作用。

2.1.5 牛场沼液对辣椒绵腐病菌的抑制效果

由表 5 可见,辣椒绵腐菌块在对照处理中生长速度很快,培养 2 d 后细菌便长满整个培养平皿,沼液滤液中细菌生长速度与对照较为相似,3 d 后也全部长满平皿,说明沼液滤液对辣椒绵腐病菌几乎没有抑制作用。

沼液原液处理中菌块生长速度较为缓慢,试验结束时,新鲜沼液原液处理菌块直径为 3.1 cm,表现出

一定的抑菌效果,贮存 14 d 沼液原液处理中菌块 7 d 后直径增长至 4.6 cm,贮存 30 d 沼液原液中菌块则在培养 6 d 后长满平皿,说明贮存时间对沼液抑菌效果有一定影响,沼液贮存后其对辣椒绵腐病菌的抑制效果减弱。

从试验结果可以发现,牛沼滤液对辣椒绵腐病菌几乎没有抑制作用,而牛场沼液原液对辣椒疫病菌则表现出一定的抑制作用,但其抑制效果还需要进一步研究。

2.1.6 牛场沼液对黄瓜炭疽病菌的抑制效果

由表 6 可见,在新鲜沼液的抑菌试验中,对照处理中菌块直径由 0.5 cm 长至 4.8 cm,新鲜沼液原液和新鲜沼液滤液中菌块生长相对缓慢,培养 7 d 后,新鲜沼液原液和新鲜沼液滤液处理组中菌块直径分别仅为 1.1 cm 和 3.1 cm,都表现出一定的抑制作用,贮存沼液的抑菌试验中,贮存沼液原液和沼液滤液中菌块生长速度都明显较对照慢,说明各种沼液和滤液对黄瓜炭疽病菌都有一定的抑制作用,且原液效果优于滤液。这表明沼液具有用于防治黄瓜炭疽病的潜力和

表 4 辣椒疫病菌在 PDA 平板上的生长直径(cm)

Table 4 The growth diameter of *Phytophthora capsici* Len on the PDA medium(cm)

处理	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
新鲜沼液原液	0.9±0.2	0.9±0.1	0.9±0.2	1.2±0.3	1.0±0.1	1.0±0.1	1.1±0.1
新鲜沼液滤液	1.2±0.1	2.8±0.1	4.3±0.1	5.6±0.2	6.9±0.2	8.2±0.3	长满
对照	1.1	2.5	3.9	5.1	6.2	7.2	长满
贮存 14 d 沼液原液	1.6±0.1	3.8±0.2	5.1±0.8	5.3±0.5	5.3±0.5	5.4±0.5	5.4±0.5
贮存 14 d 沼液滤液	1.7±0.1	3.2±0.1	4.6±0.1	5.6±0.1	6.9±0.0	7.9±0.1	长满
对照	1.7	3.3	4.5	5.6	6.7	7.6	长满
贮存 30 d 沼液原液	1.7±0.2	2.9±0.3	3.1±0.3	3.9±0.1	4.2±0.1	4.4±0.1	4.8±0.2
贮存 30 d 沼液滤液	1.8±0.1	3.2±0.0	4.6±0.3	5.9±0.5	7.9±1.0	8.3±0.6	长满
对照	2.1	3.4	5.0	6.4	7.8	长满	—

注:“—”表示由于对照平板中病菌长满整个平皿,试验结束。

表 5 辣椒绵腐病菌在 PDA 平板上的生长直径(cm)

Table 5 The growth diameter of *Pythium aphanidermatum* on the PDA medium(cm)

处理	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
新鲜沼液原液	2.2±0.4	2.2±1.0	2.9±1.4	3.0±1.5	2.8±1.5	2.9±1.6	3.1±1.8
新鲜沼液滤液	4.8±0.1	8.2±0.7	长满	—	—	—	—
对照	5.1	长满	—	—	—	—	—
贮存 14 d 沼液原液	4.2±0.7	6.1±0.5	3.9±0.4	3.9±0.4	4.1±0.2	4.3±0.4	4.6±0.6
贮存 14 d 沼液滤液	6.9±0.2	长满	—	—	—	—	—
对照	6.8	长满	—	—	—	—	—
贮存 30 d 沼液原液	4.6±0.5	5.4±0.2	5.5±0.2	5.8±0.1	6.2±0.4	长满	—
贮存 30 d 沼液滤液	7.5±0.2	长满	—	—	—	—	—
对照	7.6	长满	—	—	—	—	—

注：“—”表示由于对照平板中病菌长满整个平皿，试验结束。

表 6 黄瓜炭疽病菌在 PDA 平板上的生长直径(cm)

Table 6 The growth diameter of *Glomerella cingulata* Var. *orbicularis* Jenkins, Winstead et Mc Combs on the PDA medium(cm)

处理	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
新鲜沼液原液	0.6±0.0	0.8±0.2	0.8±0.3	1.0±0.5	1.0±0.6	1.0±0.5	1.1±0.5
新鲜沼液滤液	0.7±0.0	1.4±0.3	1.9±0.5	2.2±0.6	2.7±1.0	2.9±1.1	3.1±1.1
对照	0.7	1.9	2.6	3.3	3.9	4.4	4.8
贮存 14 d 沼液原液	0.8±0.1	0.8±0.0	0.8±0.1	0.9±0.1	0.9±0.0	0.9±0.0	0.9±0.0
贮存 14 d 沼液滤液	1.2±0.2	1.4±0.3	1.7±0.4	1.8±0.5	1.9±0.6	2.9±2.5	2.3±1.0
对照	1.2	2.5	3.6	4.4	5.1	5.8	6.3
贮存 30 d 沼液原液	0.6±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1	0.9±0.1	0.8±0.1	0.9±0.1	1.0±0.2
贮存 30 d 沼液滤液	1.0±0.1	1.5±0.3	1.8±0.3	2.2±0.5	2.6±0.9	3.1±1.4	3.4±1.8
对照	1.2	2.4	3.3	3.9	4.6	5.5	5.8

应用价值。

2.1.7 牛场沼液对茄子灰霉病菌的抑制效果

由表 7 可见，新鲜沼液的抑菌试验结束时，对照组菌块直径为 8.2 cm，而新鲜沼液原液和新鲜沼液滤液处理中菌块的直径分别为 0.8 cm 和 1.7 cm，都表现出对茄子灰霉菌较强的抑制效果。

贮存 14 d 沼液抑菌试验中，对照处理中菌块 5 d 后长满整个平皿，贮存 14 d 沼液原液中菌块 7 d 后仅为 1.3 cm，同时，贮存 14 d 沼液滤液中菌块直径为 5.2 cm，说明贮存 14 d 沼液原液对茄子灰霉病菌仍有着强烈的抑制作用，但滤液的抑菌效果不明显，贮存 30 d 沼液的抑菌试验中，对照处理组菌块 6 d 后长满

表 7 茄子灰霉病菌在 PDA 平板上的生长直径(cm)

Table 7 The growth diameter of *Botrytis cinerea* on the PDA medium(cm)

处理	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
新鲜沼液原液	0.5±0.0	0.6±0.1	0.6±0.0	0.7±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1	0.8±0.1
新鲜沼液滤液	0.6±0.0	1.0±0.2	1.2±0.6	1.4±0.7	1.5±0.7	1.7±1.0	1.7±1.0
对照	0.8	2.2	4.3	5.0	5.8	7.1	8.2
贮存 14 d 沼液原液	0.8±0.2	1.0±0.3	1.1±0.3	1.2±0.4	1.3±0.4	1.3±0.5	1.3±0.6
贮存 14 d 沼液滤液	1.4±0.1	2.6±0.7	3.7±1.5	4.1±2.1	4.8±2.8	5.2±3.3	5.2±3.3
对照	1.6	4.0	6.1	7.6	长满	—	—
贮存 30 d 沼液原液	0.5±0.0	0.5±0.0	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1
贮存 30 d 沼液滤液	0.6±0.1	0.7±0.1	0.8±0.2	1.0±0.4	1.3±0.8	1.4±0.9	1.6±1.0
对照	1.3	3.3	4.5	5.9	6.7	长满	—

注：“—”表示由于对照平板中病菌长满整个平皿，试验结束。

平皿, 贮存 30 d 沼液原液和滤液中菌块生长速度则相对缓慢, 培养 7 d 后菌块直径分别为 0.7 cm 和 1.6 cm, 依然表现出较强的抑菌效果。

2.2 沼液贮存对抑菌效果的影响

为分析不同贮存期沼液对这几种蔬菜病原菌抑制效果是否存在显著性差异, 本研究对不同处理对这 7 种蔬菜病原菌 7 d 培养时间内的平均抑菌率进行了计算, 其中: 对番茄叶霉病菌的抑菌率 A 按照公式 (1) 进行计算, 对其他 6 种真菌的抑菌率 B 按照公式 (2) 进行计算。结果见表 8。

抑菌率 A(%)=(处理平皿中抑菌的面积/对照平皿中菌落生长圈的面积)×100 (1)

抑菌率 B(%)=[(对照平皿中抑菌的面积-处理平皿中菌块的面积)/对照平皿中菌块的面积]×100 (2)

2.2.1 沼液贮存对番茄叶霉病菌抑制效果的影响

由表 8 可见, 新鲜沼液原液对番茄叶霉病菌的平均抑菌率为 19.4%, 显著优于贮存 14 d 沼液原液的抑菌率(7.2%), 且二者差异显著, 说明随着贮存时间的延长, 原液对番茄叶霉病菌的抑制率有显著的下降趋势; 新鲜滤液对番茄叶霉病菌抑制作用显著强于贮存 14 d 滤液, 说明随贮存时间的增加, 滤液的抑菌作用显著下降。

2.2.2 沼液贮存对番茄灰霉病菌抑制效果的影响

沼液和滤液对番茄灰霉病菌均表现出较好的抑制效果, 抑菌率均在 50% 以上。沼液原液和滤液对番茄灰霉病菌抑制作用呈现出相同的规律, 不同处理组抑制作用强弱依次为新鲜>贮存 30 d>贮存 14 d, 但任意两组处理之间差异不显著, 因此贮存时间对沼液原液和沼液滤液的抑菌性没有显著影响。

2.2.3 沼液贮存对番茄早疫病病菌抑制效果的影响

沼液原液对番茄早疫病病菌的抑制效果较好, 抑菌率均在 40% 以上。沼液原液对番茄早疫病病菌的抑制

作用强弱依次为新鲜>贮存 14 d>贮存 30 d, 经方差分析, 3 组处理的抑制效果没有显著差异。分析认为沼液原液贮存对番茄早疫病病菌的抑菌性没有显著影响。

沼液滤液的抑菌性则相对较低, 均低于 16%, 同原液类似, 滤液对番茄早疫病病菌的抑制效果强弱依次为新鲜>贮存 14 d>贮存 30 d, 方差分析显示, 任意两组处理之间都没有显著差异, 说明沼液滤液贮存对番茄早疫病病菌的抑制作用同样没有显著影响。

2.2.4 沼液贮存对辣椒疫病病菌抑制效果的影响

沼液原液对辣椒疫病病菌抑制效果强弱依次为新鲜>贮存 30 d>贮存 14 d。新鲜沼液原液对辣椒疫病病菌的抑制率较高, 为 55.3%, 贮存 14 d 和贮存 30 d 沼液原液的抑菌率则分别为 3.9% 和 6.4%。经方差分析, 新鲜原液抑菌率显著高于贮存 14 d 和 30 d 处理, 而贮存 14 d 和 30 d 处理之间没有显著差异, 说明随着贮存时间的延长, 沼液原液对辣椒疫病病菌的抑制率显著下降。

滤液对辣椒疫病病菌的抑制率很低, 抑制作用强弱依次为贮存 30 d>贮存 14 d>新鲜。经方差分析, 贮存 30 d 滤液的抑菌率显著高于其他 2 个处理, 同时其他 2 个处理之间没有显著性差异, 说明滤液抑菌率随贮存时间的增加有所提高。

2.2.5 沼液贮存对辣椒绵腐病菌抑制效果的影响

新鲜沼液原液、贮存 14 d 和 30 d 沼液原液对辣椒绵腐病菌的抑菌率分别为 44.2%、12.3% 和 14.9%, 从数据分析看, 沼液原液贮存后, 其对辣椒绵腐病菌的抑菌性有下降的趋势。滤液对辣椒绵腐病的抑制效果整体较弱, 强弱依次为新鲜>贮存 30 d>贮存 14 d, 同原液相似, 滤液对绵腐病菌的抑制率随贮存时间的增加表现出下降趋势。

2.2.6 沼液贮存对黄瓜炭疽病菌抑制效果的影响

新鲜沼液原液、贮存 14 d 和 30 d 沼液原液对黄

表 8 牛场沼液贮存时间对 7 种蔬菜病菌的平均抑菌率(%)

Table 8 The inhibitory effects of storage biogas slurry of cattle manure(%)

组别	番茄叶霉病菌	番茄灰霉病菌	番茄早疫病病菌	辣椒疫病病菌	辣椒绵腐病菌	黄瓜炭疽病菌	茄子灰霉病菌
牛沼原液	新鲜	19.4±13.2a	57.5±28.0a	50.4±25.1a	55.3±25.0a	44.2±16.2	44.1±19.7a
	贮存 14 d	7.2±6.7b	54.0±37.5a	47.5±21.5a	3.9±5.3b	12.3±5.6	55.8±21.7a
	贮存 30 d	—	53.8±36.9a	45.2±19.1a	6.4±6.0b	14.9±1.3	66.0±17.0a
沼液滤液	新鲜	8.4±7.3a	54.9±11.1a	16.0±0.0a	0.0±0.1b	0.2±4.3	8.2±20.6b
	贮存 14 d	2.7±1.2b	51.1±7.3a	12.7±0.0a	0.0±0.0b	0.0±14.4	26.4±7.6a
	贮存 30 d	—	53.2±5.5a	8.9±1.0a	1.0±0.0a	0.0±6.1	15.4±16.8b

注: 字母相同表示处理间差异不显著($P>0.05$), 字母不同表示差异显著($P<0.05$); 在辣椒绵腐病菌抑制试验中只有 2 d 的数据, 因此没有进行方差分析。

瓜炭疽病菌的抑菌率分别为44.1%、55.8%和66.0%，有逐渐增高的趋势，但方差分析显示三者之间没有显著差异，说明沼液贮存对其抑菌效果没有显著影响。

滤液对黄瓜炭疽病菌抑制效果较弱，强弱依次为贮存14 d>贮存30 d>新鲜。方差分析显示，贮存14 d滤液的抑菌率显著高于其他2组处理，其他2组处理之间则没有显著差异，因此滤液贮存适当的时间能够提高其对黄瓜炭疽病菌的抑制效果。

2.2.7 沼液贮存对茄子灰霉病菌抑制效果的影响

新鲜沼液原液、贮存14 d和30 d沼液原液对茄子灰霉病菌的抑制率分别为65.1%、58.4%和71.1%。经方差分析，三者之间无显著差异，沼液原液贮存时间对茄子灰霉病菌抑菌作用没有显著影响。

新鲜沼液滤液、贮存14 d和30 d沼液滤液对茄子灰霉病菌的抑制率分别为44.6%、14.4%和59.3%。经方差分析，贮存30 d滤液的抑菌率与新鲜滤液没有显著差别，但显著高于贮存14 d滤液。因此，随着贮存时间延长，滤液的抑菌率先是显著性降低，然后又提高至新鲜滤液的抑菌水平。

3 结论

(1)新鲜牛沼原液对番茄灰霉病菌、番茄早疫病病菌、辣椒疫病菌、辣椒绵腐病菌、黄瓜炭疽病菌以及茄子灰霉病菌均表现出较强的抑制作用(7 d试验的平均抑菌率均在44.1%以上)，对番茄叶霉病菌的抑制作用不明显。新鲜牛场沼液滤液对番茄灰霉病菌和茄子灰霉病菌有较强的抑制作用(7 d试验的平均抑菌率分别为54.9%和44.6%)，对番茄叶霉病菌、番茄早疫病病菌和黄瓜炭疽病菌虽有一定的抑制效果但不明显(7 d试验的平均抑菌率均在26.4%以下)，对辣椒疫病菌和辣椒绵腐病菌则没有抑制作用。

(2)随沼液贮存时间增加，牛场沼液对番茄叶霉病菌、番茄灰霉病菌、番茄早疫病病菌、黄瓜炭疽病菌和茄子灰霉病菌的抑制率没有显著变化，对辣椒疫病菌和辣椒绵腐病菌的抑制效果有下降趋势。滤液贮存对番茄灰霉病菌的抑菌率没有显著影响，但对茄子灰霉病的抑制率先是显著下降然后又增加至新鲜滤液的抑菌水平。研究结果为牛场沼液应用于蔬菜病害防治贮存时间的选择提供了参考依据。

(3)牛场沼液对7种蔬菜病原菌抑制效果的实验室条件下研究结果表明，沼液对某些蔬菜病菌具有较强的抑制效果，但目前关于沼液抑菌的研究仍处于起步阶段，对于沼液中抑菌物质的成分以及具体的抑菌

方式等都需要进一步研究。

参考文献：

- [1] 陈丽琼. 沼气发酵液对烟草赤星菌的抑制及其机理研究[D]. 昆明：云南师范大学, 2006.
CHEN Li-qiong. Study on inhibition effects and mechanical of biogas fluids on *Alternaria alternate*[D]. Kunming: Yunnan Normal University, 2006.
- [2] 吕锦萍, 李俊杰, 巴哈提古丽, 等. 博州地区沼气池沼液沼渣有机质及养分含量分析[J]. 中国沼气, 2008, 26(5): 28-29.
- [3] 谢涛. 农村沼气发酵及其残余物的主要化学成分评价[D]. 重庆：西南大学, 2007.
XIE Tao. Biogas fermentation in rural and primary chemical component evaluate of the residual products[D]. Chongqing: Southwest University, 2007.
- [4] 郝元元, 刘荣厚. 大中型沼气工程工艺流程、发酵原料及其产物测试分析[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(14): 3429-3431.
HAO Yuan-yuan, LIU Rong-hou. Test and analysis of the raw material of biogas fermentation and its by-product[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2006, 34(14): 3429-3431.
- [5] 钟攀, 李泽碧, 李清荣, 等. 重庆沼气肥养分物质和重金属状况研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(增刊): 165-171.
ZHONG Pan, LI Ze-bi, LI Qing-rong, et al. Contents of selected nutrients and heavy metals in biogas slurry[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26 (Suppl): 165-171.
- [6] 王济, 蔡景行, 刘钦, 等. 水稻沼肥栽培试验初探[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 2008, 26(1): 11-13.
WANG Ji, CAI Jing-hang, LIU Qin, et al. Preliminary study on rice planting using biogas manure[J]. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences)*, 2008, 26(1): 11-13.
- [7] 甘寿文, 徐兆波, 黄武. 大型沼气工程生态应用关键技术研究[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(5): 1293-1297.
GAN Shou-wen, XU Zhao-bo, HUANG Wu. Key technology for ecological application of large scale biogas project[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2008, 16(5): 1293-1297.
- [8] 覃舟. 施用沼液对紫甘蓝产量、营养品质及土壤质量的影响[J]. 江西农业学报, 2009, 21(7): 83-86.
QIN Zhou. Effect of biogas slurry application on yield, nutrition quality of purple cabbage and soil quality[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2009, 21(7): 83-86.
- [9] 张进, 张妙仙, 单胜道, 等. 沼液对水稻生长产量及其重金属含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(10): 2005-2009.
ZHANG Jin, ZHANG Miao-xian, SHAN Sheng-dao, et al. Growth status, grain yield and heavy metals content of rice (*Oryza sativa* L.) as affected by biogas slurry application[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(10): 2005-2009.
- [10] 李彦超, 廖新伟, 吴银宝. 施用沼液对杂交狼尾草产量和土壤养分含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1527-1531.
LI Yan-chao, LIAO Xin-di, WU Yin-bao. Effects of slurry application on biomass of crossbred pennisetum and soil nutrient[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(4): 1527-1531.

- [11] 唐 微, 伍 钧, 孙百晔, 等. 沼液不同施用量对水稻产量及稻米品质的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(12): 2268-2273.
TANG Wei, WU Jun, SUN Bai-ye, et al. Effects of application amounts of biogas slurry on yield and quality of rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(12): 2268-2273.
- [12] 章红兵, 李君荣, 邵康伟. 饲料添加沼液喂猪的效果观察和安全性研究[J]. 家畜生态学报, 2009, 30(3): 68-72.
ZHANG Hong-bing, LI Jun-rong, SHAO Kang-wei. Safety and effect of biogas slurry in swine feed[J]. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 2009, 30(3): 68-72.
- [13] 管莉波, 虞方伯, 罗锡平, 等. 几种沼液复配农药对小麦雪霉叶枯病菌的抑制效果研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(16): 7542-7545.
GUO Li-bo, YU Fang-bo, LUO Xi-ping, et al. Effect of several pesticide formulations mixed with biogas slurry on the inhibitory of *gerlachia nivalis*[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2009, 37(16): 7542-7545.
- [14] 陈丽琼, 尹 芳, 张无敌, 等. 沼气发酵液对烟草赤星菌的抑制研究[J]. 可再生能源, 2004(3): 22-24.
CHEN Li-qiong, YIN Fang, ZHANG Wu-di, et al. Study on the inhibition effect of biogas fermentative liquid on *Alternaria longipes*[J]. *Renewable Energy*, 2004(3): 22-24.
- [15] 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.
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.
- [16] 陈丽琼, 尹 芳, 张无敌, 等. 存放沼液对烟草赤星菌的抑制研究[J]. 农业与技术, 2005, 25(5): 57-61.
CHEN Li-qiong, YIN Fang, ZHANG Wu-di, et al. Study the inhibition effect of deposited biogas fluid on *Alternaria alternate*[J]. *Agriculture and Technologies*, 2005, 25(5): 57-61.
- [17] 陈丽琼, 尹 芳, 刘士清, 等. 沼液与 8 种农药对烟草赤星病抑制效果的对比研究[J]. 中国沼气, 2006, 24(3): 16-18.
CHEN Li-qiong, YIN Fang, LIU Shi-qing, et al. Application of biogas slurry and different pesticide for the inhibition of tobacco brown spot diseases[J]. *China Biogas*, 2006, 24(3): 16-18.
- [18] 张 平. 沼液对禾谷镰刀菌杀抑效果的试验[J]. 农村能源, 2001(1): 25-26.
ZHANG Ping. Test on disinfect effect of the bioliquid to the cereal sickle bacterial[J]. *Rural Energy*, 2001(1): 25-26.