

# The Study of Inhibition on *Fusarium Oxysporum* by Different Biogas Fermentation Liquid

Hanmin ZHANG<sup>1</sup>, Fang YIN, Wudi ZHANG<sup>2</sup>, Rui XU, Yubao CHEN, Jianchang LI, Shiqing LIU

Institute of Solar Energy; Ministry of Education; Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy, Ministry of Education; Provincial Key Laboratory of Bioenergy and Environmental Biotechnology; Provincial Key Laboratory of Rural Energy Engineering; Yunnan Normal University, Kunming 650092, P. R. Chin

Email: wootichang@263.net

**Abstract:** Using the different anaerobic fermentation slurry, we want to determinate the effect of different biogas slurry on the inhibition of *Fusarium oxysporum* by the experiments of plate culture. The results show that different biogas slurry has a significant inhibitive effect on *F. oxysporum*. The slurry of red wine waste has the best inhibitive effect on *F. oxysporum* with an inhibition rate of about 87%. The inhibitory effectiveness decreased in the order: slurry of red wine waste > blue-green algae > naringin > straw > tobacco stems > cow dung. Under the experimental condition in this paper, we prove that the residuals of biogas fermentation have a significant inhibitive effect on *F. oxysporum*.

**Keywords:** biogas slurry; *Fusarium oxysporum*; inhibitive effect

## 不同发酵原料沼液对尖镰孢菌的抑制研究

张汉敏, 尹芳, 张无敌, 徐锐, 陈玉保, 李建昌, 刘士清

云南师范大学太阳能研究所, 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心, 云南省生物质能与环境生物技术重点实验室, 云南省农村能源工程重点实验室, 中国 昆明 650092

Email: wootichang@263.net

**摘要:** 取实验室厌氧发酵装置正常产沼气的不同沼液, 对尖镰孢菌作平板培养抑菌实验, 检测不同沼液对尖镰孢菌生长的影响。结果表明: 不同沼液对尖镰孢菌均有良好的抑制作用, 其中以废醪液发酵液对尖镰孢菌的抑制作用最好, 抑制率达 87%。不同沼液的抑制效果依次为: 废醪液发酵液 > 蓝藻 > 柚皮 > 稻草 > 烟杆 > 牛粪。在本实验条件下, 证明沼气发酵代谢产物对尖镰孢菌的抑制效果很好。

**关键词:** 沼气发酵液; 尖镰孢菌; 抑制效果

### 1 引言

尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)是一种世界性分布的毁灭性土传病原真菌, 在世界范围内已报道的被枯萎病尖镰孢菌严重危害的作物有番茄、香蕉、辣椒、西瓜、黄瓜、棉花等 100 多种果蔬, 有植物“癌症”之称<sup>[1-5]</sup>。

长期以来, 人们对农作物害虫的防治主要依赖化学农药和合成农药<sup>[6-7]</sup>, 但我国农产品的安全生产是一个迫在眉睫的问题<sup>[8]</sup>。自古我国农民就有在农田中施用人畜粪便的习惯, 是因为沼液含有丰富的养分和生物活性

物质<sup>[9-10]</sup>, 是一种“广谱性生物农药”<sup>[11-13]</sup>。实现沼液的合理利用是解决化学农药对蔬菜、粮食等农产品污染的重要突破口<sup>[14]</sup>。云南省农村能源工程重点实验室张无敌等报道了沼气发酵液对某些青霉和曲霉、烟草赤星病菌、甘薯黑斑病菌、三七镰刀菌、除虫根腐病、葡萄炭疽病等 20 多种植物病原菌的实验研究, 结果均有良好的抑制效果<sup>[15-18]</sup>。但这些抑菌实验均采用同种沼液做比较, 而不同发酵液来抑制一种病原菌的效果比较目前还不多见。本实验采用稻草、柚皮、废醪液、蓝藻、烟杆和牛粪的发酵液对尖镰孢菌做抑制效果比较。

### 2 材料和方法

#### 2.1 材料

供试病原菌: 尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum*), 由

科技部农业科技成果转化基金项目(2009GB2F300348)

<sup>1</sup>张汉敏(1987-), 男, 云南宣威人, 云南师范大学能源与环境科学学院 2006 级本科生

<sup>2</sup>通讯作者

云南农业大学植物病理重点实验室提供。

沼液：稻草、柚皮、废醪液、蓝藻、烟杆和牛粪发酵液，均取自本实验室产气正常的厌氧发酵装置。

培养基：常规 PDA 培养基。

## 2.2 方法

PDA 培养基的制备：马铃薯 200 g 洗净去皮切成小块，加 1000 mL 水煮沸，用纱布过滤，滤液加葡萄糖 20 g，琼脂 20 g，加热，搅拌，待琼脂溶化后补水至 1000 mL，pH 自然，趁热分装于三个 500 mL 的三角瓶中，121℃ 高压高湿灭菌 30min，待冷却到 50℃ 时倒入直径 9 cm 的培养皿中，每皿 15 mL 左右。

供试病原菌的培养：将已接种植物病原菌的 PDA 培养皿放入 28℃ 的恒温箱中培养 3~4d，菌落长满整个培养皿，备用<sup>[19,20]</sup>。

不同料液平板的制备：将已接种植物病原菌的 PDA 培养皿放入 28℃ 的恒温箱中培养 3—4d，菌落长满整个培养皿，备用。分别取 0.5 mL 各发酵上清液加入预先备有培养基的 Φ9 cm 平板中涂布均匀，2 个平行，结果取其平均值，以无菌水 0.5 mL 为对照。

实验方法：取布满供试植物病原菌的 PDA 培养基

平板，用无菌打孔器（Φ9mm）取出菌落边缘生长旺盛的菌丝，用接种针小心地将菌种块移入“2.2.2”不同料液处理的平板上，菌丝一面朝上，每培养皿中放入三小块菌种，并呈三角形放于平板中央，加盖标记，于 28℃ 恒温箱中培养，定时观察测量不同培养基平板上病原菌菌落的直径。

抑菌活性测定方法：待培养 24h 后，用十字交叉法测量供试病原菌菌落生长直径并作好记录。

数据计算方法：采用生长速率法计算抑制菌丝生长率<sup>[21]</sup>。

抑制数 (cm) = 对照平板培养基上菌落直径 - 处理平板培养基上菌落直径。

相对抑制率 % =

$$\frac{\text{对照菌落净增长量} - \text{处理菌落净增长量}}{\text{对照菌落净增长量}} \times 100\%$$

## 3 结果与分析

不同发酵原料的沼液处理对尖镰刀菌生长菌落大小结果见表 1，不同发酵原料沼液对尖镰刀菌抑制效果见表 2。

Table 1 The diameters of *Fusarium oxysporum* inhibited by different biogas slurry (cm)

表 1 各沼液处理后尖镰孢菌的菌落直径 (cm)

名称	0d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
废酒液	0.60	0.70	0.85	0.90	1.00	1.00	1.00	1.00
蓝藻	0.60	0.65	0.95	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05
柚皮	0.60	0.80	1.00	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10
稻草	0.60	0.80	1.15	1.25	1.30	1.30	1.30	1.30
烟杆	0.60	0.75	1.05	1.25	1.25	1.35	1.35	1.35
牛粪	0.60	0.80	1.35	1.50	1.60	1.70	1.70	1.70
对照 CK	0.60	0.80	1.50	3.40	5.80	7.80	长满	长满

Table 2 The inhibitive rate of *Fusarium oxysporum* by different bio-slurry (%)

表 2 不同沼液对尖镰孢菌的抑菌率 (%)

沼液	0d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
废醪液	0.0	12.5	43.6	72.1	82.8	87.2	87.2+	87.2++
蓝藻	0.0	18.8	36.7	69.1	81.9	86.6	86.6+	86.6++
柚皮	0.0	0.0	33.3	67.6	81.0	85.9	85.9+	85.9++
稻草	0.0	0.0	13.4	63.3	77.6	83.3	83.3+	83.3++
烟杆	0.0	6.3	30.0	63.2	78.5	82.3	82.3+	82.3++
牛粪	0.0	0.0	10.0	55.9	73.0	78.2	78.2+	78.2++
对照 CK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

从表 1 和 2 可以看出, 不同发酵液对供试植物病原菌的抑制效果不同, 但抑菌率相差不大, 且与对照组相比都具有极其显著的抑制效果。各沼液对病原菌的抑制情况如下: 酒精废醪液的抑制效果最好, 高达 87%; 牛粪的抑制效果最差, 但也到达 78% 以上; 其

余沼液抑菌率均在 80% 以上。针对这几种沼液对供试病原菌的抑制效果强弱做以下排序: 酒精废醪液 > 蓝藻 > 柚皮 > 稻草 > 烟杆 > 牛粪。

厌氧发酵装置中取出的产气正常且产气稳定的各沼液, 存放 50d 后对供试植物病原菌的抑制效果见表 3 和表 4。

Table 3 The diameters of *Fusarium oxysporum* inhibited by different biogas slurry laid for 50 days (cm)

表 3 存放 50 天后各沼液处理尖镰孢菌的菌落直径 (cm)

名称	0d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
废酒液	0.60	0.74	1.10	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
蓝藻	0.60	0.76	1.18	1.22	1.25	1.25	1.25	1.25
柚皮	0.60	0.78	1.20	1.35	1.38	1.38	1.38	1.38
稻草	0.60	0.78	1.20	1.30	1.42	1.42	1.42	1.42
烟杆	0.60	0.80	1.22	1.56	1.58	1.58	1.58	1.58
牛粪	0.60	0.88	1.26	1.50	1.60	1.60	1.60	1.60
对照 CK	0.60	0.90	1.65	3.60	6.00	8.00	长满	长满

Table 4 The inhibitive rate of *Fusarium oxysporum* by different biogas slurry laid for 50 days (%)

表 4 存放 50 天后各沼液处理尖镰孢菌的抑菌率 (%)

沼液	0d	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
柚皮	0.0	13.3	27.3	62.5	77.1	82.8	82.8+	82.8++
烟杆	0.0	11.1	26.1	56.7	73.7	80.3	80.3+	80.3++
牛粪	0.0	2.2	23.6	58.3	73.3	80.0	80.0+	80.0++
蓝藻	0.0	15.6	28.5	66.1	79.2	84.4	84.4+	84.4++
废醪液	0.0	17.8	33.3	66.7	80.0	85.0	85.0+	85.0++
对照 CK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
稻草	0.0	13.3	27.3	63.9	76.3	82.3	82.3+	82.3++

从表 3 和 4 可以看出, 存放一段时间的沼液与正常运行沼液一样, 对尖镰孢菌都有极其显著的抑制效果。且抑制效果与存放前保持一致, 说明沼液对抑制尖镰孢菌的稳定性好。

实验结果表明, 不同发酵液对供试植物病原菌的抑制效果不同, 但抑菌率相差不大, 且与对照组相比都具有极其显著的抑制效果。各沼液对病原菌的抑制情况如下: 废醪液的抑制效果最好, 高达 87%; 牛粪的抑制效果最差, 但也到达 78% 以上; 其余沼液抑菌率均在 80% 以上。针对这几种沼液对供试病原菌的抑制效果强弱做以下排序: 废醪液 > 蓝藻 > 柚皮 > 稻草 > 烟杆 > 牛粪。

存放一段时间的沼液与正常运行沼液一样, 对尖镰孢菌都有极其显著的抑制效果。且抑制效果与存放

前一致, 均表现为: 废醪液 > 蓝藻 > 柚皮 > 稻草 > 烟杆 > 牛粪, 说明沼液对抑制尖镰孢菌的稳定性好。

#### 4 结论

从抑菌的效果来看, 沼液也同其他防治剂一样, 不可能达到 100% 的效果, 但抑菌效果最差的牛粪抑菌率都达到 78% 以上, 说明各发酵液对供试植物病原菌的抑制效果都很好。从存放前后的抑菌率可以看出其抑制率稳定, 可以作为一种新型农药替代加以开发利用。

通过抑菌效果试验, 找到了一种有效抑制尖镰孢菌的方法。用沼气发酵液来防治病害, 不仅不会产生抗性, 还能改善生态环境, 产生经济效益, 符合整个世界生态农业的发展趋势。它将成为化学农药的替代品, 为开发生物农药提供优异的基础条件。但这

种抑制作用可能与体系在此时的发酵代谢产物有关,可能是各种微生物对病原菌具有一定的竞争关系,具体原因与机理有待进一步深入研究。

## References (参考文献)

- [1] Yin Xiaomin, Chen Di & Zheng Fucong, Advance in biological control of *Fusarium oxysporum*[J], *Journal of Guangxi Agri*, 2008, 39(2), P172-178.
- [2] Chen Guokang, Gilardi Giovanna, Gullino maria lodoviea. evaluation of rocket resistance to *Fusarium wilt* [J], *Acta Phytomycolica Sinica*, 2007, 34(1), P39-45.
- [3] Liu Liang, Song Chun, Jin Xuefei et al., The improvement of the biocontrol effect of *Fusarium oxysporum* FO47 by Protoplast Fusion[J], *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2009, 18(5), P105-108(Ch).  
刘亮, 宋春, 金雪菲等, 原生质体融合提高非致病性尖镰孢 FO47 的生防效果[J], *西北农业学报*, 2009, 18(5), P105-108.
- [4] Liu Yang, Liu Chang-uan, Zhao Kuihua et al., The biological characteristics of *Fusarium oxysporum* on pepper[J], *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2009, 40(3), P291-295(Ch).  
刘洋, 刘长远, 赵奎华等, 辣椒根腐病菌—尖镰孢菌生物学特性研究[J], *沈阳农业大学学报*, 2009, 40(3), 291-295.
- [5] Aier Aimeng Aneikebi Wu Bosilande, Capsicum of *Fusarium wilt*[J], *Chinese Capsicum*, 2002, (2), P47-48(Ch).  
艾耳·艾蒙·阿内克彼·乌·博斯兰得, 辣椒(Capsicum)尖镰孢菌 *Fusarium* 病害述评[J], *中国辣椒*, 2002, (2), P47-48.
- [6] Liu Changjiang, Men Wanjie, Liu Yanjun et al., The pollution of pesticides in soils and its bioremediation[J], *System Sciences and Comprehensive Studies In Agriculture*, 2002, 18(4), P295-297(Ch).  
刘长江, 门万杰, 刘彦军, 农药对土壤的污染及污染土壤的生物修复[J], *农业系统科学与综合研究*, 2002, 18(4), P295-297.
- [7] Huang jing & Qiao Chuanling, Mechanism and application of insect detoxification enzymes in bioremediation of pesticide contamination[J], *Agro-environmental Protection*, 2002, 21(3), P285-287(Ch).  
黄菁, 乔传令, 昆虫解毒酶解毒机理及其在农药污染治理中的应用[J], *农业环境保护*, 2002, 21(3), P285-287.
- [8] Du Xingge, Wang Huimin & Wang Ruigang. The organic agriculture activities and plant of technology [M], Beijing: China Agricultural University Press, 2002(Ch).  
杜相革, 王慧敏, 王瑞刚, 有机农业原理和种植技术[M], 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- [9] Wu Feilong, Ye meifeng & Lin Daiyan, Progress of comprehensive utilization of biogas slurry[J], *Energy and Environment*, 2009, (1), P94-105(Ch).  
吴飞龙, 叶美锋, 林代炎, 沼液综合利用研究进展[J], *能源与环境*, 2009, (1), P94-105.
- [10] Zhang Wudi, Liu Shiqing, Lai Jianhua et al., The effects of anaerobic fermentation residue on prevention of disease, and insect pests for crops[J], *China Biogas*, 1996, 14(1), P6-9(Ch).  
张无敌, 刘士清, 赖建华等, 厌氧消化残留物在防治农作物病虫害中的作用[J], *中国沼气*, 1996, 14(1), P6-9.
- [11] Zhang Wudi, Zong Debin & Song Hongchuan, Position and function of anaerobic digestion in eco-agriculture[J], *Eco-agriculture Research*, 1994, 2(1), P56-61(Ch).  
张无敌, 宗德彬, 宋洪川, 沼气发酵系统在生态农业中的地位和作用[J], *生态农业研究*, 1994, 2(1), P56-61.
- [12] Shen Ruizhi A broad: Spectrum bio-pesticide type bio-fertilizer—anaerobic fermentation effluent and plant adverse resistance[J], *Acta Agriculturae Shanghai*, 1997, 13(2), P89-96(Ch).  
沈瑞芝, 一种广谱性的生物肥料和生物农药——厌氧消化液与植物抗逆性[J], *上海农业学报*, 1997, 13(2), P89-96.
- [13] Zhang Wudi, Song Hongchuan, Ding Qi et al., Application of methane fermentative residues in control of crop diseases and insect pests[J], *Research of Agricultural Modernization*, 2001, 22(3), P167-170(Ch).  
张无敌, 宋洪川, 丁琪等, 沼气发酵残留物防治农作物病虫害的效果分析[J], *农业现代化研究*, 2001, 22(3), P167-170.
- [14] Zhang Quanguo, Yang Ru, Li Gailian et al., Drug effect of compound pesticide composed by anaerobic fermentation slurry[J], *Journal of Anhui Agri. Sci*, 2007, 35(1), P136-137(Ch).  
张全国, 杨茹, 李改莲等, 沼液复合型杀虫剂的药效研究[J], *安徽农业科学*, 2007, 7(2), P18-21.
- [15] Yin Fang, Zhang Wudi, Liu Shiqing et al., Pathogen control function of firedamp bio-slurry[J], *Journal of Catastrophology*, 2007, 22(2), P70-72(Ch).  
尹芳, 张无敌, 刘士清等, 沼气发酵液对农作物病害的防治[J], *灾害学*, 2007, 22(2), P70-72.
- [16] Yin Fang, Zhang Wudi, Liu Shiqing et al. Study on affecting factors of biogas blurry on bacteriostatic activity of *Fusarium solani*[J], *China Biogas*, 2006, 24(2), P51-52(Ch).  
尹芳, 张无敌, 刘士清等, 沼液抑制三七镰刀菌的影响因素研究[J], *中国沼气*, 2006, 24(2), P51-52.
- [17] Chen Liqiong, Study on inhibition effects and mechanical of biogas fluids on *Alternaria alternate*[D], Kunming: Yunnan Normal University, 2006(Ch).  
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.
- [18] Li Li, Influence of *Eupatorium adenophorum* on bacteriostatic activity of biogas broth[D], Kunming: Yunnan Normal University, 2008(Ch).  
李丽, 紫茎泽兰对植物病原菌抑制作用的研究[D], 昆明: 云南师范大学, 2008.
- [19] Zhang Wudi, Liu Shiqing, Xie Jian et al., Study of antimicrobial effect of biogas fluid on *Penicillia* and *Aspergilli*[J], *New Energy*, 1998, 20(1), P1-3(Ch).  
张无敌, 刘士清, 谢建等, 沼气发酵液对青霉、曲霉等真菌的抑制作用之研究[J], *新能源*, 1998, 20(1), P1-3.
- [20] Yin Fang, Zhang Wudi, Liu Shiqing et al., Research on bacteriostatic activity of biogas broth on plant pathogenic microbes[J], *Renewable Energy Resources*, 2005(2), P9-11(Ch).  
尹芳, 张无敌, 刘士清等, 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), P9-11.
- [21] Mu Li-yi. The plant of protect research method[M], Beijing: *Chinese Agricultural Publication*, 1994(Ch).  
慕立义, 植物化学保护研究方法[M], 北京: 中国农业出版社, 1994.