

# 蛆粪有机肥对玉米致病真菌及线虫的活性抑制研究

张紫秋, 喻东, 雷璉, 李明瑞, 林连兵\* (昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南昆明 650000)

**摘要** [目的]探讨蛆粪有机肥对玉米病害的防治效果。[方法]研究了不同浓度的蛆粪有机肥提取液对玉米致病真菌及线虫的抑制活性,并研究了蛆粪有机肥对染尖孢镰刀菌的玉米种子的防治效果。[结果]蛆粪有机肥提取液对5种玉米植物致病菌有较好的抑菌效果,当用添加有蛆粪有机肥浓缩液的培养基进行抑菌试验时,抑菌效果明显,其对线虫的杀伤作用也优于复合肥。玉米种子发芽试验结果表明用蛆粪有机肥提取液浸种,可减少真菌感染,提高发芽率。[结论]蛆粪有机肥对玉米真菌病害及线虫具有较好的防治效果,有望进一步研究与开发。

**关键词** 蛆粪有机肥;玉米致病真菌;植物线虫;抑菌

中图分类号 S141 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)32-11336-03

## Inhibition Activity of Maggot Frass Organic Fertilizer on Corn Pathogenic Fungi and Nematodes

ZHANG Zi-qiu, YU Dong, LEI Jin, LIN Lian-bing\* et al (Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650000)

**Abstract** [Objective] The aim was to discuss the control effects of maggot frass organic fertilizer on corn diseases. [Method] Different concentrates of maggot frass organic fertilizer were prepared to detect their inhibitory activity on corn pathogenic fungi and nematodes, and the control effect of maggot frass organic fertilizer on corn seeds infected by *Fusarium oxysporum* sp. was studied. [Result] The maggot frass organic fertilizer concentrates had obvious inhibitory effects on corn plant pathogens, and their lethal effects on nematodes were higher than that of the compound fertilizer. After corn seeds were soaked with the concentrates of maggot frass organic fertilizers, the concentrates of maggot frass organic fertilizer could reduce the infection of pathogenic fungi and improve the germination rate of the seeds. [Conclusion] The maggot frass organic fertilizer has good control effects to corn pathogenic fungi and nematodes, so it is hopeful for further research and development.

**Key words** Maggot frass organic fertilizer; Corn pathogenic fungi; Plant nematode; Bacteriostasis

家蝇幼虫常在各种病原菌滋生的肮脏环境中繁衍生长,而且自身并不被病菌所感染。经初步研究,家蝇幼虫在生长发育过程中能分泌有广泛抑菌作用而对其自身无害的活性物质——抗菌肽<sup>[1-2]</sup>。经验证家蝇幼虫的分泌物可抗多种植物病原菌<sup>[2]</sup>。防治植物线虫病一直以化学杀线虫剂为主,而这些农药多为剧毒,污染环境,破坏生态,对人畜不安全,难于符合可持续发展农业的要求。有报道应用集约化养殖蝇蛆的过程中发现蝇蛆饲料残渣对植物线虫有较好的防治作用<sup>[3]</sup>。

蛆粪有机肥是将鸡粪、猪粪及其他配料饲喂家蝇幼虫,待幼虫长成并收集后,将剩余渣料进一步发酵形成的一种有机肥。它富含各种根际细菌、放线菌和真菌等微生物。通过虫粪里有益微生物的生命活动,可解析土壤中不能利用的化合态磷和钾为可利用态的磷、钾及微量元素等;通过有益微生物的生命活动,可分泌生长素、细胞分裂素、赤霉素、吲哚酸等植物激素,促进作物生长,调控作物代谢。另一方面,虫粪中富含大量的有机物以及植物生长所必需的微量元素,如氮、磷、钾、矿物质等其他营养物质,这些营养物质不仅能够促进植物的正常生长,而且可刺激植物产生更多的抗体,提升植物自身的抗病能力。再加上虫粪中含有大量的微生物,扩大了土壤原有的微生物数量以及种类,尤其是一些拮抗菌和腐生菌数量的增加能够有效抑制病原菌,起到预防土壤病虫害的效果。鉴于此,笔者研究了蛆粪有机肥水提液对玉米致病真菌的抑菌作用、蛆粪有机肥对线虫的防治作用及蛆粪有机肥对被真菌感染的玉米种子的防治作用,旨在为进一步

探讨蛆粪有机肥对植物病害的防治作用提供借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 蛆粪有机肥。**蛆粪有机肥以鸡粪为主要原料,经EM菌发酵后用于养殖蝇蛆,蝇蛆收集后所剩渣料经渥堆发酵,冷却后干燥而成,该试验样品为云南昆虫生物科技有限公司提供,其水分为20.0%,pH 8.0,有机质含量为54.0%,总养分为9.7%,重金属含量符合NY 525-2012标准。

**1.1.2 培养基。**培养基为改良马丁氏培养基,葡萄糖10.0g、蛋白胨5.0g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g,水1000ml。

**1.1.3 供试菌株。**玉米纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)、玉米穗腐病禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、玉米弯孢霉叶斑病菌(*Curvularia lunata*)以及尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)。

**1.1.4 供试品种。**京粘一号玉米种子,由北京思贝奇种子有限公司生产。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 蛆粪有机肥提取液的制备。

**1.2.1.1 蛆粪有机肥提取液。**取蛆粪有机肥800g,加入1000ml蒸馏水,37℃摇床摇20min,4层纱布过滤。过滤液12000r/min离心30min,取上清,细胞破碎5min,12000r/min离心10min,取上清,制得提取液。

**1.2.1.2 蛆粪有机肥浓缩液。**取蛆粪有机肥提取液25ml,真空冷冻干燥12h,加5ml无菌水溶解,制得蛆粪有机肥浓缩液。

**1.2.1.3 蛆粪有机肥浸渍液。**取蛆粪有机肥40g,置于1000ml的蒸馏水中,37℃摇床摇20min,4层纱布过滤,制得虫粪浸渍液。

**作者简介** 张紫秋(1988-),女,湖北随州人,硕士研究生,研究方向:蛆粪有机肥。\*通讯作者,教授,硕士,硕士生导师,从事绿色循环农业研究。

**收稿日期** 2014-09-30

**1.2.2 无机肥浸渍液的制备。**取实验室常用复合肥(雅冉苗乐)40 g,置于1 000 ml蒸馏水中,37℃摇床摇20 min,4层纱布过滤,制得复合肥浸渍液。

**1.2.3 供试植物线虫悬液的制备。**取感染根结线虫病的芥蓝菜植株病根周围土壤,置于贝尔曼漏斗中孵化,24 h后开始收集2龄线虫<sup>[4]</sup>,将线虫悬浮液稀释为40条/ml,室温保存待用。

**1.2.4 抑菌谱的测定。**设2个处理和1个对照组,即A组:每20 ml的改良马丁氏培养基中加入2 ml虫粪浓缩液,混合倒平板;B组:每20 ml的改良马丁氏培养基中加入1 ml的虫粪浓缩液,混合倒平板;对照组:为20 ml马丁氏培养基直接倒平板(不添加虫粪浓缩液)。3组培养基平板分别接种5种植物致病真菌,于28℃下培养5 d,观察菌落生长情况,测定其菌落生长情况,确定其抑菌效果。

抑制率 = (对照组菌落直径 - 试验组菌落直径) / 对照组菌落直径 × 100%

**1.2.5 蛆粪有机肥对植物线虫存活的影响。**以蒸馏水作空白对照,取虫粪浸渍液和复合肥浸渍液,分别稀释8倍、4倍、2倍(依次设置为a、b、c,原液设为d),每种样品吸取20 ml分别置于培养皿中,每个培养皿加1 ml制备好的线虫悬浮液,每个处理2次重复,24 h后镜检查看线虫的状态。

**1.2.6 蛆粪有机肥对染病玉米种子的防治效果研究。**将虫粪提取液稀释8倍、4倍、2倍备用。精选饱满无损种子500粒分5个处理进行发芽试验:①接种尖孢镰刀菌后用蒸馏水拌种;②接种尖孢镰刀菌后用稀释8倍的蛆粪有机肥提取液拌种;③接种尖孢镰刀菌后用稀释4倍的蛆粪有机肥提取液拌种;④接种尖孢镰刀菌后用稀释2倍的蛆粪有机肥提取液拌种;⑤接种尖孢镰刀菌后用蛆粪有机肥提取原液拌种。每个处理20颗,重复5次。

拌种时间5 min,取出种子待晾干。每个培养皿放5 ml蒸馏水,铺上纱布,放上6种处理的种子,28℃下培养7 d左右,计算发芽率。然后将发芽的种子播种,15 d后记录成活率。通过发芽率和成活率来综合评价蛆粪有机肥对感病种子的治愈效果。

防治效果 = 发芽率 × 成活率

## 2 结果与分析

**2.1 蛆粪有机肥对玉米致病真菌的作用** 由表1和图1可知,蛆粪有机肥对5种玉米致病真菌都有较好的抑制效果,且活性较高,抑菌谱较广。A组除了对尖孢镰刀菌的抑制率为74.7%外,对其他玉米致病菌的抑制率均达到100%。B组的抑菌效果效果也十分明显,对玉米小斑病菌的抑制率为100%,对玉米弯孢霉叶斑病菌的抑制率为72.7%,对玉米穗腐病菌的抑制率为25.0%,对玉米纹枯病菌的抑制率为75.6%,对尖孢镰刀菌的抑制率为58.7%。

**2.2 蛆粪有机肥对植物线虫存活的影响** 线虫大小约为0.01 mm × 0.13 mm(图2)。由表2可知,蛆粪有机肥对线虫有较好的杀伤作用,一方面可能是由于蛆粪有机肥中含有分泌物、蝇和蛹的卵壳以及幼虫蜕的皮<sup>[3]</sup>,另一方面是因为蛆

粪有机肥中含有的根系细菌可防治线虫<sup>[5-6]</sup>。当稀释4倍的蛆粪浸渍液浸泡线虫24 h后,对线虫的杀伤作用达到50.0%;稀释2倍的蛆粪浸渍液浸泡线虫24 h后,对线虫的杀伤作用达到80.0%。当用蛆粪浸渍原液浸泡线虫24 h后,对线虫杀伤作用达到100%,而复合肥浸渍原液对线虫的杀伤作用为77.5%。并且随着蛆粪有机肥浓度的增加,杀伤作用增强。

表1 蛆粪有机肥对玉米致病真菌菌落生长的影响

真菌种类	A组		B组		对照组 菌落直径//cm
	菌落直径 cm	抑制率 %	菌落直径 cm	抑制率 %	
玉米小斑病菌	0	100	0	100	4.0
玉米弯孢霉叶斑病菌	0	100	1.5	72.7	5.5
玉米穗腐病菌	0	100	6.0	25.0	8.0
玉米纹枯病菌	0	100	2.0	75.6	8.2
尖孢镰刀菌	1.9	74.7	3.1	58.7	7.5

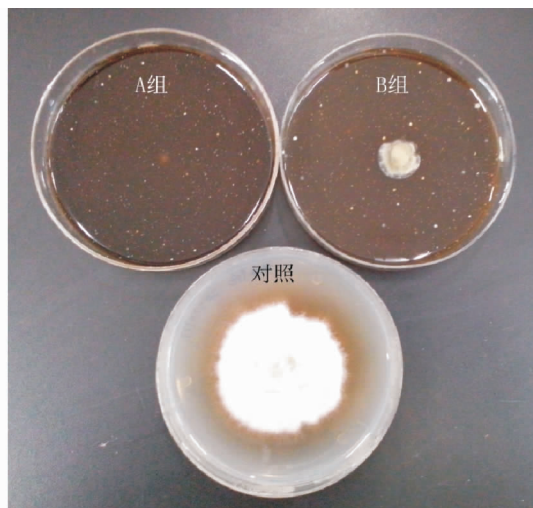


图1 蛆粪有机肥对玉米弯孢霉叶斑病菌的抑菌效果



图2 线虫形态

**2.3 蛆粪有机肥对染病玉米种子的防治效果** 由表3可知,适当浓度的蛆粪处理液可促进感病种子的发芽,当浓度为③组稀释4倍的蛆粪提取液处理时发芽率最高;蛆粪处理液浓度越高,防治种子发霉越有效,当浓度高于虫粪提取液4倍稀释液时,对种子染病有较好的抑制效果。因此,蛆粪有机肥浓度过低对病菌的抑制作用不够,影响发芽,浓度过高虽能抑制病原菌,但也会降低发芽率。15 d后看玉米幼苗成活率,发现浸种浓度过高,还会影响种子发芽后的生长,降低

幼苗成活率。综上,当选蛆粪有机肥提取液4倍稀释液为处理液时,对感病种子的保苗效果最好,防治效果达到100%。

表2 蛆粪有机肥和复合肥不同处理对线虫存活的影响

处理	蛆粪有机肥				复合肥			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
对照	1	1	2	36	1	1	2	36
a	8	18	9	5	8	13	10	9
b	20	15	5	0	15	14	6	5
c	32	8	0	0	26	10	4	0
d	40	0	0	0	31	8	1	0

注:“-”表示线虫伸直无反应;“+”表示线虫有微反应;“++”表示线虫有适当反应;“+++”表示线虫有刺激反应。“+”个数越多表明线虫活性越强。

表3 蛆粪有机肥对玉米种子发芽的影响 %

处理组	发芽率	发霉率	成活率	防治效果
①	0	100	0	0
②	50	50	100	50
③	100	3	100	100
④	40	1	50	20
⑤	0	0	0	0

### 3 讨论

蛆粪有机肥中含有蝇蛆分泌物,对植物多种重要病原菌有抑制作用,可防治作物多种病害的发生。国内研究者以蝇蛆幼虫体内直接提取抗菌肽来抑制各种细菌,如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等<sup>[1]</sup>,但关于蝇蛆饲料残渣制成的蛆粪有机肥直接对植物致病真菌的抑菌作用及对线虫的杀伤作用的研究报道很少。目前报道的在温室和田间对植物寄生线虫有防效的根际细菌有荧光假单胞菌、球形芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、放射形土壤杆菌、蜡状芽孢杆菌等<sup>[7]</sup>,经试验证明蛆粪有机肥中含有大量枯草芽孢杆菌且在虫粪菌群中为优势菌株,有报道称枯草芽孢杆菌对植物致病真菌有较好的防治作用且具有广谱性<sup>[8]</sup>,其抑菌机理主要是与致病真菌在营养

和空间位点的竞争<sup>[9]</sup>、可分泌抗菌物质以及溶菌作用。同时枯草芽孢杆菌对线虫也有很好的防治效果<sup>[10]</sup>。综上所述,蝇蛆粪中含有抗菌肽以及多种抗病害有益菌,对防治植物病害有很好的效果。有报道称用1:4浓度(500 g/L)幼虫饲料残渣浸渍液直接处理根结线虫虫卵和幼虫4 d可致死<sup>[3]</sup>。该研究蛆粪有机肥浸出液同样可使根际线虫致死率达到100%。蛆粪有机肥具有多功能全价养分的特点,为植物的生长提供了较全面的养分。蛆粪生物有机肥集微生物肥、有机肥、无机肥特点于一体,具有多功能、多效和全价养分的特点,且市场潜力大,投资回报率高<sup>[11-12]</sup>。深入研究和开发蝇蛆粪对于生物有机肥料行业和蝇蛆养殖业都有积极意义。

### 参考文献

- [1] 国果,吴建伟.家蝇幼虫分泌物抗菌组分的抗菌效果观察及筛选[J].国际医学寄生虫病杂志,2006,33(1):6-9.
- [2] 张文吉,明九雪,罗记合,等.家蝇幼虫分泌物防治植物病害研究简报[J].植物保护学报,1994(1):90-96.
- [3] 陈美,陈小麟.家蝇幼虫饲料残渣防治植物线虫的研究[J].厦门大学学报:自然科学版,2003,42(6):810-814.
- [4] 毛小芳,李辉信,陈小云,等.土壤线虫三种分离方法效率比较[J].生态学杂志,2004,23(3):149-151.
- [5] CADENA M B, BURELLE N K, LAWRENCE K S, et al. Suppressiveness of root-knot nematodes mediated by rhizobacteria[J]. Biological Control, 2008, 47:55-59.
- [6] SIDDIQUI Z A, BAGHEL G, AKHTAR M S. Biocontrol of *Meloidogyne javanica* by rhizobium and plant growth-promoting rhizobacteria on lentil[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2007, 23:435-441.
- [7] 祝明亮, 张克勤, 夏振远. 烟草根结线虫生物防治研究进展[J]. 微生物学通报, 2004(6):95-99.
- [8] 程洪斌, 刘晓桥, 陈红漫. 枯草芽孢杆菌防治植物真菌病害研究进展[J]. 上海农业学报, 2006, 22(1):109-112.
- [9] BACON C W, YATES I E, HINTON D M. Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize[J]. Environmental Health Perspectives, 2001, 109(2):325-332.
- [10] 刘玮玮, 季静, 王超, 等. 枯草芽孢杆菌挥发产物的杀线虫活性评价及成分鉴定[J]. 植物病理学报, 2009, 39(3):304-309.
- [11] 杨鹤萍, 徐大刚. 蝇蛆生态处理猪粪对家蝇产卵和孵化的影响[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2004, 22(1):9-10.
- [12] 张廷军. 蝇蛆的经济价值及其在动物饲料上的应用[J]. 中国动物保健, 2002(2):34-35.

(上接第11320页)

- [14] 雷钧涛, 蔡柏玲. 薄层扫描法测定龟甲中胆甾4,6-二烯-3醇的含量[J]. 医药导报, 2005, 11(24):1050-1051.
- [15] 陈薇, 曾和平, 王春燕, 等. 中药龟板提取物化学成分及其调控鼠骨髓间充质干细胞(rMSCs)增殖活性的实验研究[J]. 化学学报, 2007, 65(3):265-270.
- [16] 骆达, 李惠芬, 李秀兰. 异硫氰酸苯醋衍生化——HPLC法测定龟甲中胶原蛋白[J]. 中草药, 2009, 39(6):851-852.
- [17] 王新雨, 谭晓梅, 陈飞龙. HPLC-ELSD法测定醋龟甲中羧脯氨酸[J]. 中草药, 2011, 42(7):1338-1340.
- [18] 方文忠, 葛尔宁, 盛振华. 鳖甲、龟板中脂肪酸的GC-MS比较分析[J]. 内蒙古中医药, 2013, 6(17):43-45.
- [19] 谢学明, 李熙灿, 钟远声, 等. 龟板体外抗氧化活性的研究[J]. 中国药房, 2006, 17(18):1368-1370.
- [20] 黄春花, 李熙灿, 陈东风. 两种不同产地龟甲抗氧化活性研究[J]. 现代预防医学, 2007, 34(5):828-830.
- [21] 李熙灿, 谢学明, 黄春花, 等. 龟板醇提物对大鼠骨髓间充质干细胞氧化损伤的修复及其抗脂质过氧化作用[J]. 中草药, 2007, 38(7):1043-1046.
- [22] 陈东风, 杜少辉, 李伊为, 等. 龟板对大鼠局灶性脑缺血模型3种 NOS

- 亚型的作用[J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(5):278-281.
- [23] 陈东风, 杜少辉, 李伊为, 等. 龟板对局灶性脑缺血后神经干细胞的作用[J]. 广州中医药大学学报, 2001, 18(4):328-331.
- [24] CHEN D F, ZENG H P, DU S H, et al. Extracts from plas-trum Testudinis promote proliferation of rat bone-marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Cell Proliferation, 2007, 40:196-212.
- [25] 杜少辉, 陈东风, 李伊为, 等. 龟板对脑缺血大鼠骨髓间充质干细胞移植后分化为神经元的影晌[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(3):205-207.
- [26] 周健洪, 陈东风, 黎晖, 等. 龟板含药血清对大鼠骨髓间充质细胞体外增殖的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2005, 22(1):40-43.
- [27] 黎晖, 周健洪, 陈东风, 等. 龟甲对大鼠骨髓间充质干细胞向成骨分化的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(3):11.
- [28] 郑庆元, 余伟吉, 杜少辉, 等. 龟板含药血清对骨髓间充质干细胞增殖细胞核抗原表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(2):268-270.
- [29] 陈兰, 黎晖, 李春, 等. 龟板有效成分抗无血清损伤表皮干细胞凋亡的研究[J]. 中西医结合学报, 2011, 8(9):888-893.
- [30] 曹佳会, 伍艺灵, 张还添, 等. 龟板提取物靶向BMP4通路抑制PC12细胞凋亡[J]. 中草药, 2011, 42(1):108-111.
- [31] 顾迎寒, 卢先明, 蒋桂华, 等. 不同品种龟甲滋阴作用的对比研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6):1417-1418.