

文章编号:1003-8701(2010)04-0036-05

放线菌 769 防治水稻稻瘟病的发酵条件研究

隋 丽,徐文静,杜 茜,张正坤,李启云*

(吉林省农业科学院,长春 130033)

摘要:对放线菌 769 防治水稻稻瘟病的最适培养基成分和发酵条件进行研究。结果表明,F 培养基最适合该菌株的发酵培养,在此基础上对碳、氮源和无机盐进行了优化,通过正交试验确定了菌株 769 的最优发酵培养基配方为:黄豆粉 2.0%、玉米粉 1.50%、蔗糖 1.0%、牛肉膏 0.60%、碳酸钙 0.30%、硫酸铵 0.50%、氯化钠 0.30%、硫酸镁 0.10%、磷酸二氢钾 0.02%、硫酸亚铁 0.01%。通过对最佳发酵培养基初始 pH 值、接种量、摇瓶装液量、摇床转速等发酵条件进行正交试验设计,确定摇瓶最佳发酵条件组合为:种子液菌龄 28 h,接种量 4%,发酵时间 72 h,培养基初始 pH 6.72,培养基装量 70 mL/250 mL 三角瓶,发酵温度 28℃,摇床转速 180 r/min。

关键词:放线菌 769;稻瘟病;发酵培养基;发酵条件

中图分类号:S435.111.4⁺¹

文献标识码:A

Studies on Fermentation Conditions of 'Actinomycetes 769' against *Magnaporthe grisea*

SUI Li, XU Wen-jing, DU Qian, ZHANG Zheng-kun, LI Qi-yun*

(Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, ChangChun 130033, China)

Abstract: The fermentation medium and conditions of 'Actinomycetes 769' against *Magnaporthe grisea* were studied. The results indicated that the most appropriate fermentation medium was medium F. Furthermore, the carbon source, nitrogen source and mineral salts were optimized by Orthogonal experiment. The results showed that the optimum combination of medium and the optimal component were 2.0% soybean powder, 1.5% corn powder, 1.0% sucrose, 0.60% beef extract, 0.3% CaCO₃, 0.5% (NH₄)₂SO₄, 0.3% NaCl, 0.1% MgSO₄, 0.02% KH₂PO₄ and 0.01% FeSO₄, respectively. In this research, the optimum fermentation condition to enhance antibiotic activities of 'Actinomycetes 769' were as follows: culture temperature 28℃, pH 6.72, and seed age 28 hours, inoculation volume 4%, 70 ml liquid medium in 250 ml flask, 180 r/min, and 72 hours in shaker.

Keywords: Actinomycetes 769, *Magnaporthe grisea*, Fermentation medium, Fermentation situation

水稻稻瘟病(Rice Blast),又名稻热病,俗称火烧瘟、吊头瘟、招颈瘟等,是由梨形孢属灰梨孢菌(*Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc)引起的真菌性病害,全球有 80 多个国家发生,也是我国南北稻区危害最严重的水稻病害之一。该病害具有传播快、发生范围广、暴发频率高、灾变严重等特点,在水稻的各个生育期和各个部位均可发生,每年可造

成 10%~20% 的产量损失^[1-2]。针对该病,生产上采用的防治方法主要为选用抗病品种、化学农药防治以及生物防治。经过数十年的研究,在品种抗性、抗性基因、病菌生理小种、致病基因、品种和病菌互作、病害生态因子和病害区域控制等领域均取得了明显的进展,防治水平有了很大的提高。但在抗病品种不能满足生产需要的情况下,化学农药防治不但给生态环境、人类健康带来了不可忽视的严重危害,而且由于病菌对常用药剂抗药性的逐渐增强,使得防效不断下降。因此生物防治被认为是该病害最有发展潜力的防治方法之一。放

收稿日期:2010-03-25

作者简介:隋 丽(1981-),研究实习员,硕士,从事生物农药研究。

通讯作者:李启云,博士,研究员,E-mail: qyli@cjaas.com

线菌 769^[3-4]是 20 世纪 60 年代末,吉林省农业科学院针对禾谷类黑穗病从本院温室土壤中分离出来的一株农用抗生素放线菌,其发酵过程中产生脱水放线酮、异放线酮、制霉菌素、奈良霉素 B、苯甲酸和绿色荧光霉素等次生代谢产物,对由种子传播的多种植物病害如高粱散黑穗病、坚黑穗病,小麦光腥黑穗病、网腥黑穗病,谷子黑穗病,糜子黑穗病,水稻恶苗病均具有较好的防治效果。近期的研究表明,该放线菌对水稻稻瘟病具有很好的抑菌活性。本文对放线菌 769 防治水稻稻瘟病的最适培养基成分和发酵条件进行了研究,筛选到了最优的发酵培养基配方及发酵条件,为今后水稻稻瘟病生物防治试剂的开发和应用提供一定的技术支持。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验菌

放线菌菌株 769 由吉林省农科院植物保护研究所生物农药课题组保存。水稻稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)菌株 ZA 由吉林省农科院植物保护研究所任金平研究员提供。

1.1.2 培养基配方

1.1.2.1 检测培养基

去皮马铃薯 200 g(切块,沸水煮 20 min)、葡萄糖 20 g、琼脂粉 15 g、蒸馏水 1 000 mL,pH 自然;121℃ 高压灭菌 30 min 后使用。

1.1.2.2 发酵培养基^[5](1 000 mL)

A. 可溶性淀粉 10 g、MgSO₄ 1 g、NaCl 0.5 g、KNO₃ 1 g、K₂HPO₄ 0.3 g,pH=7.2~7.4;

B. 葡萄糖 15 g、大豆粉 15 g、NaCl 5 g、酵母膏 1 g、CaCO₃ 1 g、甘油 2.5 mL,pH=7.2~7.4;

C. 黄豆饼粉 10 g、葡萄糖 10 g、NaCl 2.5 g、CaCO₃ 2 g、蛋白胨 3 g,pH=7.2~7.4;

D. 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g,pH=7.2~7.4;

E. 玉米粉 50 g、K₂HPO₄ 0.23 g、Na₂HPO₄ 1.15 g、MgSO₄ 0.2 g、KCl 0.2 g,pH=7.2~7.4;

F. 黄豆饼粉 20 g、玉米粉 15 g、酵母粉 4 g、葡萄糖 10 g、KH₂PO₄ 1 g、NaCl 1 g、CaCO₃ 3 g,pH=7.2~7.4。

1.2 方法

1.2.1 培养条件

1.2.1.1 液体种子的制备

选取成熟的孢子斜面,制成一定浓度的孢子悬液,调整终浓度为 10⁸ cfu/mL,以 4%的接种量

接种到发酵培养基中,装液量为 70 mL/250 mL,于 28℃、180 r/min 摇床培养 28 h 既得种子液。

1.2.1.2 发酵培养

选取培养好的菌株 769 的单菌落,用直径为 10 mm 的打孔器打取,取大小一致的单菌落放入到三角瓶中,每瓶一个,于 28℃、180 r/min 的条件下摇床振荡培养 72 h。

1.2.2 发酵液活性测定方法

采用拮抗法^[6]测量 769 发酵液的抑菌活性,方法为:在倒好的 PDA 平板中心打一个直径为 7 mm 的小孔,在以小孔为中心点、25 mm 为半径的均匀 4 点上放置培养好的稻瘟病菌块,在小孔中心点入 10 μL 的 769 发酵液,同时设点 10 μL 的无 769 菌块发酵液为对照,每个处理 3 个重复,28℃ 倒置培养 7 d 后测处理菌生长半径及对照菌生长的半径^[7],按下列公式计算抑菌率:

抑菌率(%)=[(对照菌生长半径 - 处理菌生长半径)/对照菌生长半径]× 100

2 结果与分析

2.1 初始发酵培养基的筛选

采用 6 种不同的发酵培养基 A、B、C、D、E、F,28℃、180 r/min 培养 72 h 后测发酵液抑菌活性,结果显示(图 1)A、B、C、D、E、F 培养基的发酵液对水稻稻瘟病菌均有明显的抑制作用。其中 F 培养基发酵液的抑菌作用最强,抑菌率达到 75.9%,比 D 培养基发酵液(36.9%)的抑菌率高 39%,因此,选择 F 培养基作为 769 菌株的基本培养基。

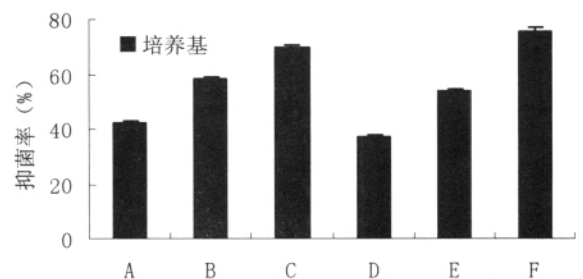


图 1 不同培养基对菌株发酵活性的影响

2.2 最佳氮源的选择

获得最佳基本培养基后,对其进行最佳氮源选择,采用无氮源的 F 发酵培养基,分别加入 A 黄豆豆粉、B 蛋白胨、C 牛肉膏、D 酵母粉、E 硫酸铵,28℃、180 r/min 培养 72h 后测发酵液抑菌活性。结果如图 2 所示,牛肉膏>黄豆豆粉>硫酸铵>蛋白胨>酵母粉,牛肉膏和黄豆豆粉作有机氮源时抑菌活性均显著高于其他处理,发酵液的抑菌作

用最强,无机氮源硫酸铵做氮源时活性也较好。因此,选用牛肉膏、黄豆豆粉和硫酸铵作为基本培养基的最佳氮源。

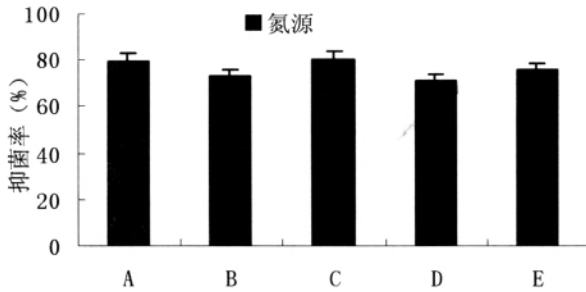


图2 不同氮源对发酵活性的影响

2.3 最佳有机碳源的选择

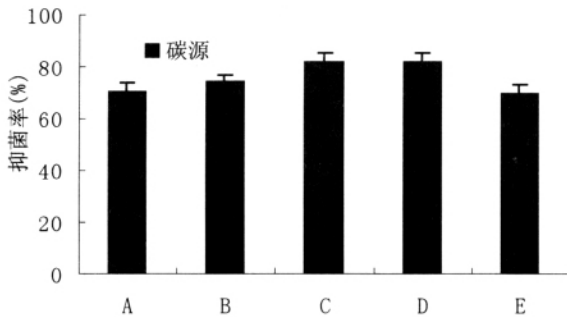


图3 不同有机碳源对发酵活性的影响

培养基的最佳氮源确定后,对其进行最佳碳源选择。本研究采用无碳源的F发酵培养基,分别加入A葡萄糖、B果糖、C玉米粉、D蔗糖、E可

溶性淀粉,28℃、180 r/min培养72 h后测发酵液抑菌活性。发酵液抑制稻瘟病菌生长结果如图3所示,玉米粉>蔗糖>果糖>葡萄糖>可溶性淀粉,选用玉米粉作为碳源,769菌株发酵液产生的抑菌作用最强,为82.56%,蔗糖的效果次于玉米粉,抑菌率为82.47%,一般在发酵过程中选用代谢速度较快的单糖和速度较慢的多糖做混合碳源,因此,选用蔗糖和玉米粉混合作为碳源。

2.4 碳氮源正交试验

表1 碳氮源正交试验选用因素和水平 %

水平	因素				
	蔗糖	玉米粉	黄豆豆粉	牛肉膏	硫酸铵
1	1.0	1.5	2	0.3	0.3
2	2.0	2.0	3	0.6	0.5

对基本培养基选择的最佳氮源和碳源进行正交实验,按照表1设计不同的因素和水平,用正交表 $L_8(2^5)$ 进行试验设计,表2中K2-K1绝对值代表不同因素对发酵液抑菌活性的影响程度,其值越大,影响程度越大;反之,其值越小,影响程度越小。因此,可以看出5种因素对发酵液抑菌作用的影响大小依次为:硫酸铵>蔗糖>黄豆豆粉>玉米粉>牛肉膏。选择较大的K1值所对应的水平作为该因素的最佳水平,即如果某个因素的 $K_1 > K_2$,则选择1水平作为该因素的最佳水平,若 $K_2 > K_1$,则选择2水平作为该因素的最佳水平,得出发酵培养基碳氮源的最佳组合为:黄豆豆粉2.0%、牛肉膏0.6%、玉米粉1.5%、蔗糖1.0%、硫酸铵0.5%。

表2 碳氮源正交试验结果

组合	因素					抑菌率(%)
	黄豆豆粉	牛肉膏	玉米粉	蔗糖	硫酸铵	
1	1	1	1	1	1	78.03
2	1	1	2	2	2	75.72
3	1	2	1	2	2	79.56
4	1	2	2	1	1	74.94
5	2	1	1	1	2	76.51
6	2	1	2	2	1	74.20
7	2	2	1	2	1	71.88
8	2	2	2	1	2	78.82
K1	308.25	304.46	305.98	308.30	299.05	K2+K1=609.66
K2	301.41	305.20	303.68	301.36	310.61	
K2-K1	6.84	0.74	2.30	6.94	11.56	

注 K1代表该因素第1水平和其他因素不同水平组合时的发酵液产生的抑菌率之和,K2代表该因素第2水平和其他因素不同水平组合时的发酵液产生的抑菌率之和,下同。

2.5 无机盐正交试验

按照已筛选的最佳碳氮源组合,根据表3设计不同的因素和水平,用正交表 $L_8(2^5)$ 进行试验设计,由表4中K2-K1的绝对值所示,5种因素对发酵液抑菌作用的影响大小依次是:氯化钠>碳酸钙>磷酸二氢钾>硫酸亚铁>硫酸镁。选择较大的K1值所对应的水平作为该因素的最佳水平,得出

各种无机盐的最佳组合为:硫酸镁0.05%、硫酸亚铁0.01%、氯化钠0.30%、磷酸二氢钾0.02%、碳酸钙0.30%。

表3 无机盐正交试验选用因素和水平 %

水平	因素				
	硫酸镁	硫酸亚铁	氯化钠	磷酸二氢钾	碳酸钙
1	0.05	0.00	0.30	0.02	0.30
2	0.10	0.01	0.50	0.05	0.50

表 4 无机盐正交试验结果

组合	因素					抑菌率(%)
	硫酸镁	硫酸亚铁	氯化钠	磷酸二氢钾	碳酸钙	
1	1	1	1	1	1	86.93
2	1	1	2	2	2	81.91
3	1	2	1	2	2	84.24
4	1	2	2	1	1	84.24
5	2	1	1	1	2	84.60
6	2	1	2	2	1	82.23
7	2	2	1	2	1	86.93
8	2	2	2	1	2	83.60
K1	337.32	335.67	342.70	339.37	340.33	K2+K1=674.68
K2	337.36	339.01	331.98	335.31	334.35	
K2-K1	0.04	3.34	10.72	4.06	5.98	

2.6 769 菌株的最佳发酵时间

根据最佳发酵培养基配方,测定 769 菌株最佳发酵时间,每隔 12 h 取样,图 4 为菌株 769 不同时间下发酵液抑菌作用效果,从图 4 中可以看出,菌株 769 发酵液在 24 h 时就已经有明显的抑菌作用,抑菌活性达 40%,在 36~60 h 内活性不断提高,72 h 时活性达到最高,为 80%,72 h 后活性又开始下降,到 108 h 时,活性已经下降到 60%以下,因此,确定其最佳的发酵时间为 72 h。

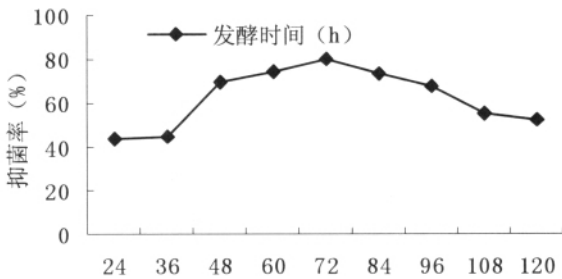


图 4 不同培养时间对发酵活性的影响

2.7 摇瓶装量试验

分别采用不同的装量,测定其对抑菌作用的影响,由图 5 中所示,不同摇瓶装量条件下,发酵液的抑菌作用不同。当摇瓶的装液量增加到 70 mL 时,发酵液的抑菌作用最强,装液量继续增加,发酵液的抑菌活性开始降低,因此选用 70 mL 三角瓶作为最佳摇瓶装量。

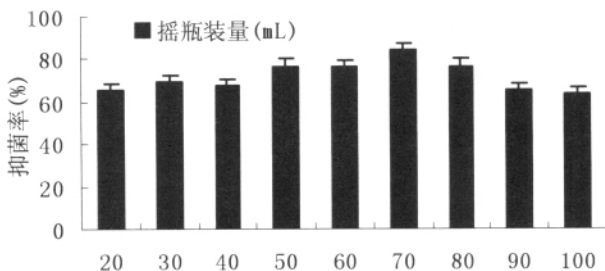


图 5 摇瓶装液量对抑菌活性的影响

2.8 种龄试验

通过种龄试验可以看到(图 6),菌株 769 接种到种子培养基中,菌体迅速繁殖,处于指数生长期,当培养时间达到 28 h,菌株生长活力最强,接种发酵培养基后产生最佳的抑菌作用,显著高于其他培养时间的抑制作用,因此选用 28 h 作为种子培养基最佳培养时间。

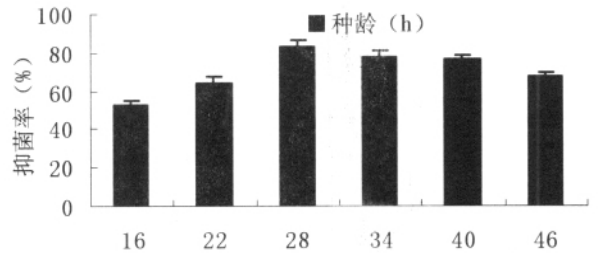


图 6 种龄对抑菌活性的影响

2.9 接种量试验

分别以 2%、4%、6%、8%、10%(v/v) 的水平接种到发酵培养基中,28℃、180 r/min 下培养 72 h 后,由图 7 所示,4%的接种量使发酵液的活性达到最高,与其它处理存在显著差异。6%接种量较 8%接种量产生的抑菌作用弱,但整体上来看,随着接种量的增加发酵液活性有不同程度的降低,因此选用 4%作为最适接种量。

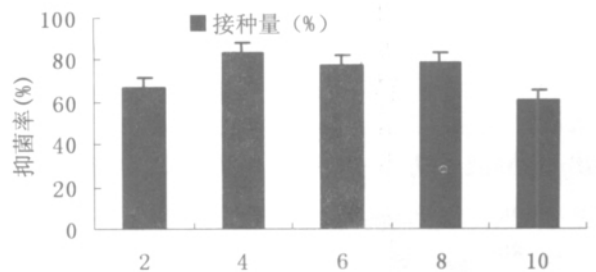


图 7 不同接种量抑菌活性的影响

2.10 发酵温度试验

根据以上材料所得的结论,分别在 24℃、26℃、28℃、30℃和 32℃条件下培养 72 h 后,结果表明(图 8),温度对菌株的生长及抗菌物质的分

泌有一定影响,温度在 24~28℃ 之间,随着温度的升高,发酵液抑菌活性增强,28℃ 抑菌活性最大,为 84.52%,当温度升高到 30℃、32℃ 时活性下降,说明温度偏高不利于抑菌物质的产生。选用 28℃ 作为 769 菌株的最佳培养温度。

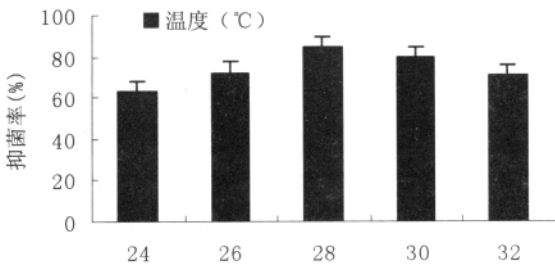


图 8 培养温度对抑菌活性的影响

2.11 摇床转速试验

分别在 140 r/min、180 r/min、200 r/min、220 r/min 条件下,测定发酵液抑菌活性。如图 9 所示,在不同的摇床转速下,发酵液抑菌活性不同,180 r/min 时产生的抑菌作用最强。随着摇床转速的不断增加,发酵液抑菌活性也不断增强,但当摇床转速超过 180 r/min 后,再增加转速发酵液抑菌活性反而下降。

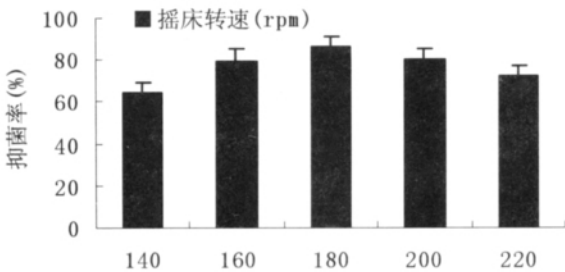


图 9 摇床转速对抑菌活性的影响

2.12 初始 pH 试验

用盐酸和氢氧化钠溶液分别调节发酵液 pH 值至自然 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,从图 10 可见,发酵液培养基的初始 pH 不同,抑菌活性也有所不同,当初始 pH 值为自然时(pH 约为 6.72),其抑菌活性较强,略高于其它处理。从图 10 中可以看出,发酵液的初始 pH 对抑菌活性影响较小。

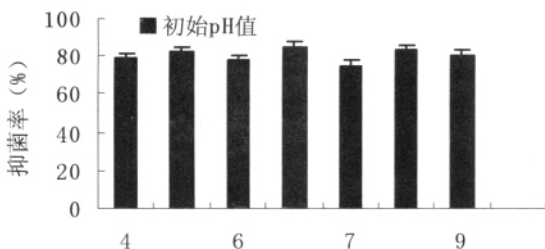


图 10 初始 pH 对抑菌活性的影响

3 结论与讨论

本研究通过正交试验设计,确定菌株 769 的最优发酵培养基配方为:黄豆豆粉 2.0%、玉米粉 1.5%、蔗糖 1.0%、牛肉膏 0.6%、碳酸钙 0.3%、硫酸铵 0.5%、氯化钠 0.3%、硫酸镁 0.1%、磷酸二氢钾 0.02%、硫酸亚铁 0.01%。确定摇瓶最佳发酵条件组合为:种子液菌龄 28 h、接种量 4%、发酵时间 72 h、培养基初始 pH 6.72、培养基装量 70 mL/250 mL 三角瓶,发酵温度 28℃,摇床转速 180 r/min。最佳发酵条件的抑菌率达到 87.75%,比初筛结果高出 20%。

发酵是一个复杂的过程,本实验对影响菌株 769 抑菌活性的一些因素进行了研究,初步确定了最佳发酵条件,对发酵培养基和发酵条件仍需进一步的优化,以及反复的重复试验。首先一些天然产物如黄豆饼粉,其含氮量变化很大,且含有很多杂质,应建立一套相应的理化性质检测标准,稳定主要成分的含量,避免发酵过程中不同批次间发酵液活性变化很大;其次本试验所筛选到的发酵培养基中主要成分如碳源和氮源大部分仍选用化学纯试剂,价格较贵不利于以后大规模的生产和试验,还需选用价格低廉,来源丰富又不影响其活性的代替品。

稻瘟病是水稻上最主要的灾害性病害之一,世界各地均有流行发生,尽管人们为防治稻瘟病做出了很大努力,但仍然是水稻生产中的主要矛盾之一。利用拮抗菌防治稻瘟病是一项很有发展前途的防治措施,但由于稻瘟病属于气传病害,拮抗菌的利用受外界环境影响较大,给防治带来了极大困难,而利用拮抗菌分离的次生代谢物质制成生防制剂(农用抗生素)来防治可以克服活菌制剂难于定殖的问题,而且农用抗生素具有活性高、剂量低、毒性低、与环境相容性好、生产原料多为可再生性资源、生产设备通用性强等优点。目前利用农用抗生素来控制稻瘟病的危害,成功的例子还不多,还有很多工作要做,特别是新的高效生防菌株的获得,发酵条件的改良,抗菌物质的分离提取,活性物质的鉴定及高效生防制剂的研究等是进一步研究的主要内容。

参考文献:

- [1] 梁曼玲. 水稻抗稻瘟病的遗传与育种研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, 21(7): 341-345.
- [2] 何明, 何忠全, 秦敏. 水稻主要病虫害综合防治技术体系的新发展[A]. 中国植物保护研究进展[C]. 北京: 中国科学技术出版社, 1996: 19-24.

改善适口性,提高消化率,关键就在于纤维素的降解。工业应用包括造纸,生物降解生产淀粉、酒精、醋酸等,易造成严重的环境污染,而且同样存在纤维素的降解问题。

农作物秸秆中含有大量有机质、氮、磷、钾和微量元素,分析得出,每 100 kg 鲜秸秆中含氮 0.48 kg,磷 0.38 kg,钾 1.67 kg,相当于 2.4 kg 氮肥,3.8 kg 磷肥,3.4 kg 钾肥。可以利用秸秆中含有的可供动植物利用的营养成分,通过堆肥和微生物处理制成饲料供动植物利用;也可以将秸秆进行堆肥后制成复合有机肥料,不仅为农田提供了大量优质的有机肥料,而且为农村解决秸秆问题找到了一条无害化、资源化、变废为宝的合理出路,因而具有很好的经济效益、环境效益和社会效益。

参考文献:

- [1] 袁镇宏,吴剑之,马隆龙,等. 生物质能利用原理与技术[M]. 北京:化学工业出版社,2004.
- [2] 李振宇,黄少安. 农村焚烧秸秆的经济分析[J]. 中国农村观,2002(5):11-15.
- [3] 魏敏,锥秋江,潘榕,等. 对棉花秸秆饲用价值的基本评价[J]. 新疆农业大学学报,2003,26(1):1-4.
- [4] 李国学,张福锁,等. 固体废物堆肥化与有机复合肥生产[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [5] 李延云. 农作物秸秆饲料加工技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,2006.
- [6] 姚向君,田宜水. 生物质能资源清洁转化利用技术[M]. 北京:化学工业出版社,2004.

- [7] 张颖,王晓辉. 农业固体废弃物资源化利用[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [8] 余群,董红敏,张肇鲲. 国内外堆肥技术研究进展[J]. 安徽农业大学学报,2003,30(1):109-112.
- [9] 闵航,陈美慈,赵宇化,等. 嗜热厌氧细菌(*Clustridium sp.*) EVA4 菌株直接纤维素生产乙醇的研究[J]. 应用与环境生物学报,1999,5(增刊):170-174.
- [10] 吕福英,陈美慈. 一个高温厌氧直接转化纤维素为乙醇的高纯富集物[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2000,26(1):56-60.
- [11] 梅洁,陈家楠,欧义芳. 醋酸纤维素的现状与发展趋势[J]. 纤维素科学与技术,1999,7(4):56-62.
- [12] 唐卫军,肖波,杨家宽,等. 生物质转化利用技术研究进展[J]. 再生资源研究,2003(4):30-32.
- [13] 兴丽,韩鲁佳,刘贤,等. 乳酸菌和纤维素酶对全株玉米青贮发酵品质和微生物菌落的影响[J]. 中国农业大学学报,2004,9(5):38-41.
- [14] J Agassi M,Hadas A,Benyamini Y, et al. Nulching effects of composted MSW on water percolation and compost degradation rate [J]. Compost Science and Utilizatio,1998,6 (3): 34-41.
- [15] Filysaa I, Ashbellb G, Henb Y, et al. The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage [J]. Animal Feed Science and Technology, 2000, 88: 39-46.
- [16] Jefeeries W,Kurtzman P. Strain selection taxonomy and genetics of xylose fermenting yeasts [J].Enzyme Mictob Technol,1994,16(11):922-931.
- [17] 张艳哲,李毅,刘吉平. 秸秆综合利用技术进展[J]. 纤维素科学与技术,2003,11(2):57-61.

(上接第 40 页)

- [3] 胡吉成,吴新兰,王瑞霞. 农抗“769”放线菌的筛选[A]. 岳德荣,胡吉成文集[C]. 长春:吉林科学技术出版社,2006:398-401.
- [4] 胡吉成. 公主岭霉素的研究[A]. 岳德荣,胡吉成文集[C]. 长春:吉林科学技术出版社,2006:377-395.
- [5] 李阜棣,喻子牛,何绍江. 农业微生物学实验技术[M]. 北京:

中国农业出版社,1996:65-69.

- [6] 张宇,张敏,刘铭,等. 稻瘟病生防放线菌 A11 菌株的发酵条件研究[J]. 植物保护科学,2005,21(5):330-331.
- [7] 汪旭. 水稻稻瘟病拮抗放线菌株 BPS28 的鉴定及发酵条件的研究[D]. 吉林农业大学,2007.
- [8] 增绍钧. 均匀设计及应用[M]. 沈阳:辽宁人民出版社,1994:10-46.

(上接第 50 页) 牛增重起主导作用的因素是环境温度;空气中 NH_3 的含量(空气质量)是第二影响因素;环境湿度和饲养密度两个因素对育肥牛增重的影响处于次要地位。

根据上述试验结果和我省西部的气候特点,我们推荐在架子牛冬季育肥生产中使用第二水平的环境温度、湿度和 NH_3 含量指标(温度 $\geq 5^\circ\text{C}$,湿度 $\leq 60\%$, $\text{NH}_3 \leq 20 \text{ mg/m}^3$),饲养密度应控制在第

2~3 水平(6~7 $\text{m}^2/\text{头}$)之间^[3]。

参考文献:

- [1] 李永红,余爱英,李春平,等. 肉牛育肥技术要点[J]. 河南畜牧兽医,2006,27(4):13-14.
- [2] 雷鸣. 肉牛育肥技术[J]. 草食家畜,2006(3):21.
- [3] 王芝秀,刘红梅,王小娜. 实施肉牛育肥技术,提高养牛经济效益[J]. 黄牛杂志,2005,31(5):9.