

刘晓辉,敖 静,高晓梅,等. 秸秆腐熟剂生产菌种固态发酵条件优化[J]. 江苏农业科学,2022,50(6):217-222.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.06.035

秸秆腐熟剂生产菌种固态发酵条件优化

刘晓辉,敖 静,高晓梅,李 杨,孙玉禄,王智学

(辽宁省微生物科学研究院,辽宁朝阳 122000)

摘要:为提高秸秆腐熟剂生产菌种胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)的纤维素酶活性,先用单因素试验方法确定发酵因素,再采用 Box-Behnken 试验优化固体发酵条件。单因素试验确定发酵条件优化结果为发酵温度 30 ℃、水料质量比 0.65、发酵时间 3 d、装袋量 200 g/600 g,在此条件下,该菌株产纤维素酶活性为 42.15 U/g。通过发酵条件优化,提高了该菌株的纤维素酶活性,符合 GB 20287—2006《农用微生物菌剂》要求,此菌株可以作为秸秆腐熟剂生产菌种,为秸秆腐熟剂菌种的构建提供理论基础。

关键词:胶红酵母;发酵条件;Box-Behnken 试验;固态发酵;纤维素酶;酶活性

中图分类号: S188⁺.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)06-0217-05

农作物秸秆是一种可持续利用的再生资源,富含纤维素、半纤维素、木质素和大量植物生长所需要的营养物质,如蛋白质、脂肪、多糖物、氮、磷、钾微量元素等^[1-3],降解后可释放有机物质和微量元素,进而转化为土壤养分,提高土壤肥力,改善土壤理化性质。但纤维素、半纤维素和木质素等高分子物质自然条件下降解速率较慢,未被降解的秸秆在土壤中长期积累不利于作物的生长,还会引起病虫害发生。若要加快还田秸秆的腐熟,必须依靠纤维素酶类进行分解^[4-6]。

秸秆腐熟剂是由芽孢杆菌、木霉菌、酵母菌等多种有益微生物复合发酵而成的加速秸秆有机物料分解、腐熟的生物活体制剂。这些微生物在生长过程中能分泌可以高效降解秸秆中纤维素、半纤维素、木质素的酶,目前在秸秆腐解中已大量应用^[7-9]。施用秸秆腐熟剂可降低秸秆拉力值,提高秸秆腐熟程度和秸秆中养分的释放利用效率,使用成本低、操作简单。还有研究证明使用秸秆腐熟剂可以增加农作物根系生物量、酶活性,提高土壤酶活性及其速效养分含量,防止秸秆还田对作物产生的不利影响,促进作物增产^[10-11],提高农

产品品质。胶红酵母是一类腐生菌^[12],其抗逆性较强,具有很高的营养价值,胶红酵母发酵会分泌多种酶类,如胃蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、植物酶等^[13-14],因此胶红酵母可以作为秸秆腐熟剂的生产菌种。

笔者所在实验室分离得到 1 株作为秸秆腐熟剂生产菌种的产纤维素酶的胶红酵母,本研究将确定此株胶红酵母最优的发酵底物配比和发酵条件,制定高效生产纤维素酶的胶红酵母发酵工艺,以期为进一步生产秸秆腐熟剂提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌种 胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)由笔者所在实验室 2018 年从辽宁省喀左县六官营子乡玉米地土壤中分离得到。

1.1.2 主要仪器 sw-cj-2d 型超净工作台(苏净集团·苏州安泰空气技术有限公司生产);MJ-54A 型高压蒸汽灭菌器[施都凯仪器设备(上海)有限公司生产];BX43 型生物显微镜(日本 Olympus 公司生产);SPX-250B-Z 型生化培养箱(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司);A560 紫外可见分光光度计[翱艺仪器(上海)有限公司];HH·B11·500-BS 型电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械公司)。

1.1.3 培养基 PDA 培养基:马铃薯 200 g/L,葡萄糖 20 g/L,琼脂 20 g/L,水 1 L,于 121 ℃条件下灭菌 15 min。

种子培养基:葡萄糖 20 g、蛋白胨 10 g、酵母提

收稿日期:2021-06-10

基金项目:辽宁省科学技术计划(编号:2020020136-JH2/102);辽宁省科技重大专项(编号:2019020171-JH1/103-01);辽宁省农科院土壤微生态学科建设专项(编号:2019DD154522)。

作者简介:刘晓辉(1968—),女,吉林榆树人,研究员,主要从事农业微生物菌种选育与土壤修复工作相关研究。E-mail: xhl94083@aliyun.com。

取物 10 g,水 1 L,于 121 ℃ 条件下灭菌 15 min。

固态发酵培养基:以玉米面、麸皮、豆饼粉、 K_2HPO_4 、 $(NH_4)_2SO_4$ 为底物按试验设计的比例混合成固态发酵培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 培养方法 取冰箱保藏的胶红酵母接种于 PDA 斜面培养基上,28 ℃ 培养 72 h 进行活性。再取 PDA 培养基上的胶红酵母菌接种于种子培养基上,于恒温振荡器中 180 r/min、30 ℃ 条件下培养 36 h,即得胶红酵母种子液。共设计 25 种不同配比,发酵底物按配比混匀,并调节水料质量比为 0.65,装袋后灭菌,待冷却后按发酵底物质量的 3% 接种。置于 30 ℃ 培养箱中培养 72 h 后待用。

1.2.2 菌数测定 用血球计数板法测定菌数:取 1 g 风干的样品加入到 23 mL 无菌水中,再加入 1 mL 死活菌染色剂,于 200 r/min 振荡 20 min,制备成菌悬液,使用 XB-K-25 型血球计数板,在显微镜下计量菌数(个/mL)。

1.2.3 纤维素酶活性的测定 纤维素酶活性按照 NY 609—2002《有机物料腐熟剂》中的方法^[15]测定。

1.2.4 固体发酵条件优化

1.2.4.1 固体发酵条件单因素试验 针对接种量、水料质量比、发酵温度、发酵时间和装袋量 5 个影响因素,以纤维素酶活性和发酵料中菌数为考察指标,分别进行单因素试验。设定不同接种量(1%、2%、3%、4%、5%、6%)、水料质量比(0.50、0.55、0.60、0.65、0.70、0.75)、发酵温度(24、26、28、30、32、34、36 ℃)、发酵时间(1、2、3、4、5、6 d)、装袋量(100、150、200、250、300、350 g),发酵结束后测发酵料纤维素酶活性和菌数。

1.2.4.2 响应面优化固体发酵条件 响应面试验因素水平如表 1 所示。

表 1 响应面试验因素水平设计^[16-18]

水平	因素			
	A:发酵温度(℃)	B:水料质量比	C:装袋量(g)	D:发酵时间(d)
-1	28	0.60	150	2
0	30	0.65	200	3
1	32	0.70	250	4

1.2.4.3 响应面条件优化验证 按照 Design-Expert 8.0.6 软件优化得到最高纤维素酶活性的发酵条件进行发酵试验,并验证该方程拟合度。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖标准曲线

如图 1 所示,葡萄糖标准曲线方程为 $y = 0.0006x + 1.0813$ ($r^2 = 0.97$),可以得出葡萄糖浓度与吸光度(D)有良好的线性关系。

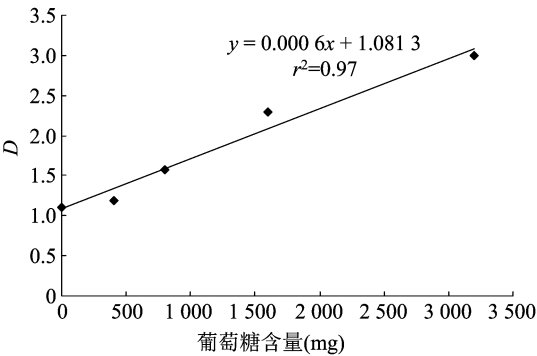


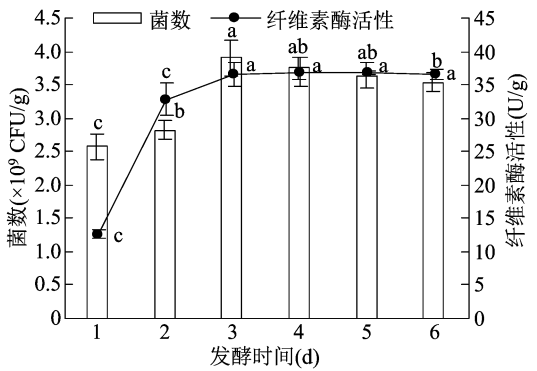
图1 葡萄糖标准曲线

2.2 固态发酵条件优化

2.2.1 单因素产酶条件优化

2.2.1.1 发酵时间对菌数和纤维素酶活性的影响

如图 2 所示,发酵 3 d 发酵物菌数和纤维素酶活性达最高,以后进入稳定期,随着发酵时间的延长,增长速率逐渐减小,由于养分的消耗和代谢减慢,纤维素酶活性也随之降低。由此确定菌株最佳发酵时间是 3 d。



不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同
图2 发酵时间对菌数和纤维素酶活性的影响

2.2.1.2 发酵温度对菌数和纤维素酶活性的影响

由图 3 可以看出,随着发酵温度的升高,菌数和纤维素酶活性都呈上升趋势,菌株最适生长温度为 28 ~ 30 ℃,菌数和纤维素酶活性在 30 ℃ 时达到最高,温度再升高菌株生长和酶活都受到抑制,超过 30 ℃,随温度升高菌数和酶活均下降。可以看出发酵温度对菌株的菌数和纤维素酶活性影响较大,综合生长速率和酶活,确定菌株最适宜的发酵温度为 30 ℃。

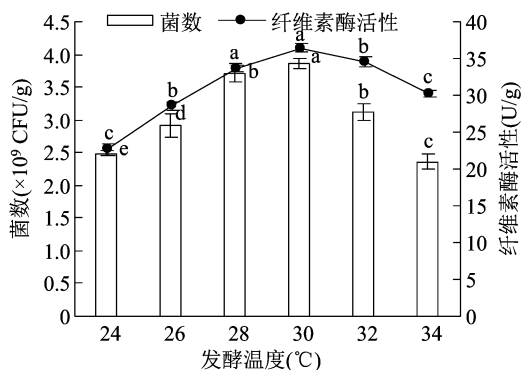


图3 发酵温度对菌数和纤维素酶活性的影响

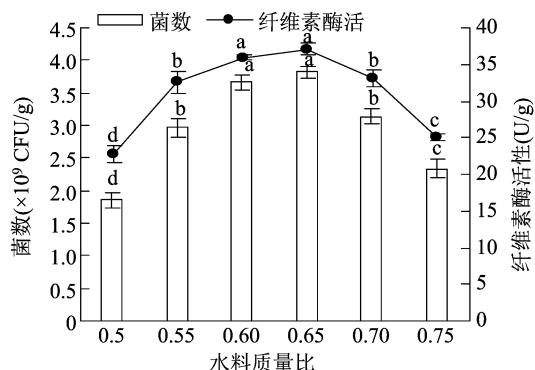


图5 水料质量比对菌数和纤维素酶活性的影响

2.2.1.3 接种量速对菌数和纤维素酶活性的影响

由图 4 可知,随着接种量的增加,菌数和纤维素酶活性均增加,当接种量为 3%~4% 时,菌数和纤维素酶活性达到最高,当接种量再度增加,菌数和酶活均有小幅度下降,但变化不大,应该是因为营养缺乏导致,但总体接菌量对菌株生长和酶活影响不是很显著,总体考虑菌株发酵最佳接种量为 3%。

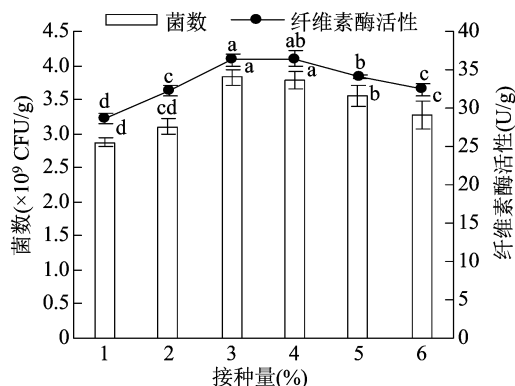


图4 接种量对菌数和纤维素酶活性的影响

2.2.1.4 水料质量比对菌数和纤维素酶活性的影响

由图 5 可知,随着水料质量比的增加,菌数和纤维素酶活性明显呈上升趋势,当水料质量比为 0.65 时,菌数和纤维素酶活性达到最高,进一步增加水料质量比菌数和酶活都有所降低,可能是因为含水量增加,料的黏度随之增加导致通气量减小。因此,菌株最佳水料质量比确定为 0.65。

2.2.1.5 装袋量对菌数和纤维素酶活性的影响

从图 6 得知,装袋量在 100~200 g 之间时随着装袋量的增加菌数和纤维素酶活有小幅度降低,到装袋量为 250 g 以后随装袋量的增加,菌数和酶活快速下降,这是因为随着装袋量的增加通氧量减少,严重影响了菌株的生长和代谢,综合考虑成本及工作量选择 200 g 为菌种发酵装袋量。

2.2.2 响应面优化发酵条件

2.2.2.1 模型建立及显著性分析 从单因素试验

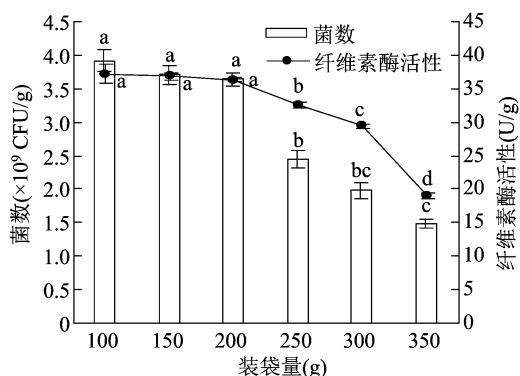


图6 装袋量对菌数和纤维素酶活性的影响

结果看,接种量对菌数和纤维素酶活性影响不显著,所以在响应面模型设计时以发酵温度(A)、水料质量比(B)、装袋量(C)和发酵时间(D)为因素,纤维素酶活性为响应值,运用 Box-Behnken 设计了 29 组试验(表 2)。

用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 2 的结果进行多元回归拟合,得到的回归方程为 $Y = 42.26 + 0.84A + 0.34B + 0.76C - 0.18D - 0.24AB + 0.03AC - 0.27AD - 0.33BC + 0.21BD - 0.20CD - 3.78A^2 - 1.84B^2 - 1.18C^2 - 2.06D^2$ 。

该模型的决定系数(R^2)为 0.996 0,校正决定系数($AdjR^2$)为 0.991 9,说明实际值和预测值拟合度比较好。由表 3 可以看出,该回归模型 $P < 0.000 1$,这表明此二次模型极显著,失拟项的 $P = 0.970 3 > 0.05$,模型失拟项不显著,说明无失拟因素存在,表明该模型在统计学上是有意义的。模型中 A、B、C、D、BC、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 的 $P < 0.01$,表明这些项对纤维素酶活性影响极显著。AB、AD、BD 的 $P < 0.05$,表明这 3 项对纤维素酶活性的影响显著。从对纤维素酶活性影响来看,一次项 A、B、C、D 均达到极显著水平,从大到小顺序为 A(发酵温度) > C(装袋量) > B(水料质量比) > D(发酵时间)。

表 2 Box – Benhnken 试验设计结果

试验号	各因素的水平				纤维素酶活性(U/g)
	发酵温度	水料质量比	装袋量	发酵时间	
1	0	0	0	0	41.82
2	1	0	0	1	36.78
3	0	-1	0	1	37.63
4	0	0	0	0	42.61
5	0	0	-1	1	38.41
6	-1	1	0	0	36.39
7	0	0	0	0	42.36
8	0	1	-1	0	39.18
9	0	0	1	-1	39.93
10	0	0	-1	-1	38.13
11	0	1	1	0	40.05
12	0	-1	1	0	40.03
13	1	0	1	0	38.97
14	0	0	1	1	39.40
15	0	1	0	-1	38.66
16	1	-1	0	0	37.29
17	0	0	0	0	42.28
18	1	0	-1	0	37.27
19	0	-1	0	-1	38.54
20	-1	0	-1	0	35.67
21	1	1	0	0	37.63
22	0	-1	-1	0	37.86
23	-1	-1	0	0	35.07
24	1	0	0	-1	37.79
25	-1	0	0	1	35.68
26	0	1	0	1	38.68
27	-1	0	1	0	37.26
28	0	0	0	0	42.21
29	-1	0	0	-1	35.62

表 3 方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	128.94	14	9.21	245.92	<0.000 1	**
A	8.40	1	8.40	224.29	<0.000 1	**
B	1.39	1	1.39	37.22	<0.000 1	**
C	6.93	1	6.93	185.07	<0.000 1	**
D	0.39	1	0.39	10.48	0.006 0	**
AB	0.24	1	0.24	6.41	0.023 9	*
AC	3.03 × 10 ⁻³	1	3.03 × 10 ⁻³	0.08	0.780 4	
AD	0.29	1	0.29	7.64	0.015 2	*
BC	0.42	1	0.42	11.28	0.004 7	**
BD	0.18	1	0.18	4.82	0.045 4	*
CD	0.16	1	0.16	4.38	0.055 1	
A ²	92.54	1	92.54	2 470.96	≤0.000 1	**
B ²	21.92	1	21.92	585.36	≤0.000 1	**
C ²	9.10	1	9.10	243.07	≤0.000 1	**
D ²	27.48	1	27.48	733.84	≤0.000 1	**
残差	0.52	14	0.037			
失拟项	0.20	10	0.02	0.24	0.970 3	
纯误差	0.33	4	0.082			
总和	129.47	28				

注:R² =0.996 0, AdjR² =0.991 9; *、** 分别表示显著(P<0.05)、极显著(P<0.01)。

条件调整为发酵温度为 30 ℃,水料质量比为 0.65,装袋量为 200 g,发酵时间为 3 d,按此条件进行试验,重复 3 次取平均值,测得纤维素酶活性为 42.15 U/g,与预测值的相对误差为 0.94%,上述验证结果表明该方程拟合较好,响应面优化得到的发酵参数准确,具有实用价值。

3 讨论

秸秆腐熟剂的菌种通常决定了腐熟剂的腐熟效果,本研究把胶红酵母菌株作为腐熟剂生产菌种,研究结果与孙旭等的研究结果^[19]一致;南华腐熟剂菌种真菌以酵母菌为主,这类微生物能产生纤维素酶、半纤维素酶类、葡聚糖酶等酶,对纤维素类的秸秆具有较强的降解能力,是常用的秸秆腐熟菌种。

秸秆腐熟剂是一种能使作物秸秆快速腐熟降解、释放养分的微生物菌剂,配施腐熟剂进行秸秆还田,可明显加快秸秆降解,提高秸秆的腐质化程度和养分释放速度^[20]。秸秆主要成分是纤维素,纤维素酶可以快速降解纤维素,因此菌株产纤维素酶能力至关重要。提高菌株产酶能力主要通过菌株

2.2.2.2 响应面交互作用分析 通过 Design – Expert 8.0.6 软件,得到两因素交互作用的 3D 响应面曲线图(图 7)。可以看出两因素之间交互作用时,其中一个因素固定,随着另一个因素的增加,纤维素酶活性均呈现先增加后下降的趋势。曲面倾斜度越大,越接近曲面顶端,颜色愈深表示作用越明显,说明相关两因素交互作用显著,曲面的变化相对平缓,说明相关两因素交互作用不明显。

2.2.2.3 最优发酵条件的验证 通过 Design – Expert 8.0.6 软件优化后的最佳发酵条件:发酵温度为 30.22 ℃,水料质量比为 0.65,装袋量为 216.05 g,发酵时间为 2.94 d,此时预测纤维素酶活性为 42.44 U/g。但为方便实际的操作,将上述发酵

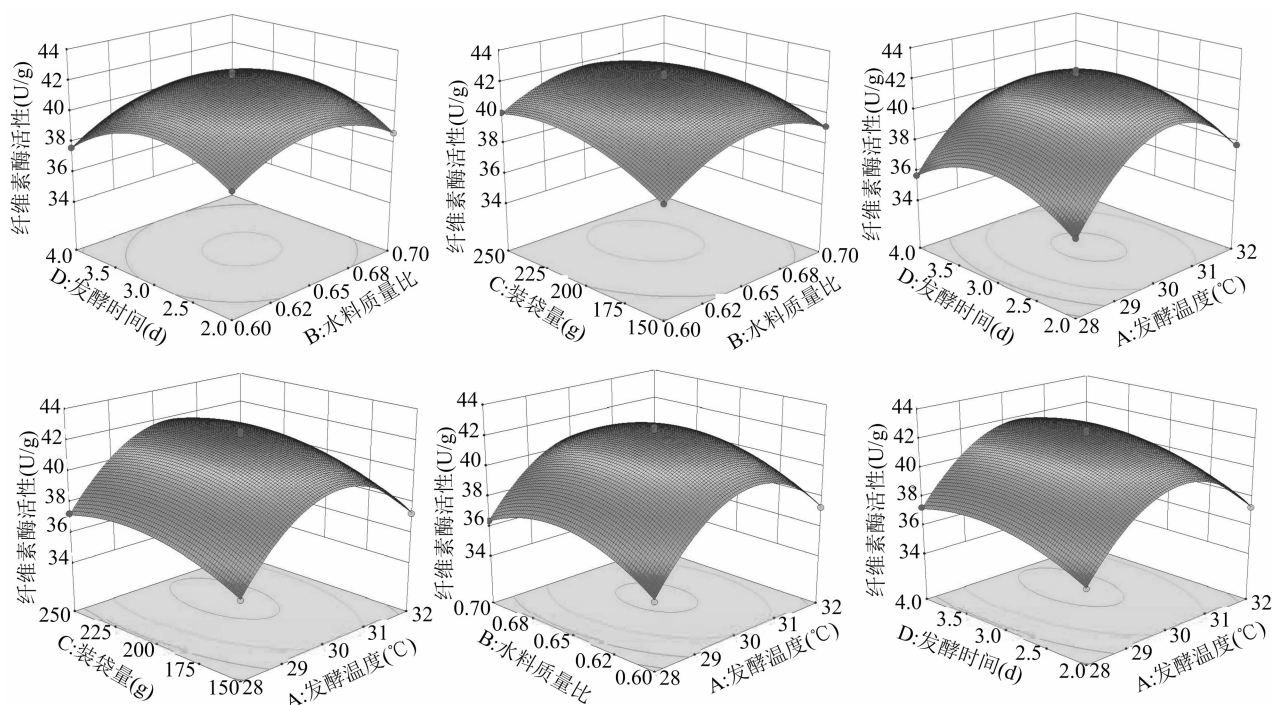


图7 优化发酵条件下的 3D 响应面图

诱变、分子生物学手段以及优化培养条件等,优化菌株的培养条件是简单易行且成本较低的手段。同一菌株在不同培养条件下产纤维素酶的能力也不同,不同菌株在相同培养条件下的产纤维素酶能力也不同。胶红酵母固态发酵产类胡萝卜素底物的最佳配比为麦麸 52.50%、豆粕 20.00%、米糠 14.00%、玉米浆 10.00%、玉米粉 3.00%、硫酸铵 0.40%、磷酸二氢钾 0.05% 和硫酸镁 0.04%^[21];最佳培养条件为接种量 5%、发酵时间 72 h、发酵温度 28 °C、pH 值 6.0、底物含水量 60%。胶红酵母固态发酵工艺优化最佳含水量为 60%、发酵时间为 72 h、接种量为 5%、pH 值为 6.0、发酵温度为 28 °C^[22],都与本研究所得的胶红酵母固态发酵条件基本一致。

4 结论

先通过单因子试验,确定菌株发酵产酶最优发酵条件分别为接种量 3%,发酵温度 30 °C,发酵时间 3 d,水料质量比 0.65,装袋量为 200 g/600 g;再通过 Design - Expert 8.0.6 软件中的 Box - Benhnken 试验设计,最终得到胶红酵母菌最佳固态发酵条件:发酵温度为 30.22 °C,水料质量比为 0.65,装袋量为 216.05 g,发酵时间为 2.94 d,此时预测纤维素酶活性为 42.44 U/g,为方便实际的操作,将上述发酵条件调整为发酵温度为 30 °C,水料质量比为

0.65,装袋量为 200 g,发酵时间为 3 d。经过优化胶红酵母的固态发酵工艺,该菌株纤维素酶活性得到显著提高,符合 GB 20287—2006《农用微生物菌剂》^[23]的要求。

参考文献:

- [1] 赵蒙蒙,姜 曼,周祚万. 几种农作物秸秆的成分分析[J]. 材料导报,2011,25(16):122-125.
- [2] 朱金霞,孔德杰,尹志荣. 农作物秸秆主要化学组成及还田后对土壤质量提升影响的研究进展[J]. 北方园艺,2020(5):146-153.
- [3] 田 平,姜 英,孙 悦,等. 不同还田方式对玉米秸秆腐解及土壤养分含量的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文),2019,27(1):100-108.
- [4] 张斯童,兰 雪,李 哲,等. 微生物降解玉米秸秆的研究进展[J]. 吉林农业大学学报,2016,38(5):517-522.
- [5] 张 倩,张 红. 秸秆腐解过程中土壤热值与有机养分动态[J]. 西北农业学报,2019,28(7):1158-1168.
- [6] 潘剑玲,代万安,尚占环,等. 秸秆还田对土壤有机质和氮素有效性影响及机制研究进展[J]. 中国生态农业学报,2013,21(5):526-535.
- [7] 张经廷,张丽华,吕丽华,等. 还田作物秸秆腐解及其养分释放特征概述[J]. 核农学报,2018,32(11):2274-2280.
- [8] 陈丽鹃,周冀衡,陈 闰,等. 秸秆还田对作物土传病害的影响及作用机制研究进展[J]. 作物研究,2018,32(6):535-540.
- [9] 魏 蔚,宋时丽,吴 昊,等. 复合菌剂对玉米秸秆的降解及土壤生态特性的影响[J]. 土壤通报,2019,50(2):323-332.
- [10] 蒋亚琴,司学刚,张运栋,等. 3 种秸秆腐熟剂的应用研究[J]. 安徽农业科学,2019,47(16):90-92.

梁天宝. 地理标志扶贫研究脉络可视化图谱及趋势分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(6): 222–229.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.06.036

地理标志扶贫研究脉络可视化图谱及趋势分析

梁天宝

(仲恺农业工程学院管理学院, 广东广州 510225)

摘要:采用图谱可视化与描述性推理相结合的研究方法, 呈现地理标志扶贫研究的热点和主题结构表象, 分析两者关系研究阶段划分、热点演进和研究主题发展脉络。研究发现, 地理标志扶贫研究呈现阶段性特征, 可分为酝酿期、起势期、震荡期、爆发期 4 个阶段; 研究关注热点经历地理标志保护、产业化、品牌和精准的演进历程; 地理标志扶贫研究主题经历了从地理标志保护出发推动区域经济发展, 发展到保护与产业化运营并重促进农业经济增长, 再到地理标志品牌化带动农民增收, 最后归结到运用综合手段, 实现精准扶贫目标的发展变迁。

关键词:知识图谱; 地理标志; 精准扶贫; 发展脉络; 可视化; 聚类图谱; 描述性推理

中图分类号: F329.9; F323.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)06-0222-08

精准脱贫是我国当前面临的三大攻坚战之一, 也是全面建设小康社会的底线目标。地理标志作为与“三农”联系最为密切的知识产权, 在精准扶贫上正发挥越来越重要的作用, 国务院出台的《“十三五”市场监管规划》中就明确指出, 要科学运用农产品商标和地理标志推进精准扶贫。地理标志扶贫的表述虽是近年出现, 但它们之间的关系研究却可追溯到 2003 年。早期的研究主要围绕利用地理标志保护促进与扶贫相关的地区农业经济发展而展开。随后, 研究又涉及和扶贫直接相关的农民增收与地理标志保护及利用的关系上^[1]。地理标志和

扶贫二者关系的研究一直延续至今。那么, 相关研究的发展动态如何? 研究热点和研究主题发生了哪些变迁? 研究趋势又是如何? 主题的研究脉络梳理能直观反映该领域的发展动态和趋势, 也能展现出主题领域的研究发展历史^[2]。因此, 本研究通过可视化知识图谱和描述性推理分析, 梳理地理标志扶贫研究脉络, 把握地理标志在国内扶贫研究过程中的角色定位及演进, 揭示地理标志与扶贫之间关系逻辑的发展历程, 为进一步指导地理标志扶贫研究提供参考。

1 研究方法和数据来源

直观梳理主题研究脉络, 呈现研究的发展趋势和热点, 知识图谱分析是近年较被认可的科学方法。该方法融合了统计学、信息科学及文献计量学等学科的理论和方法, 并以可视化的方式直观展现

收稿日期: 2020-09-26

基金项目: 国家社会科学基金(编号: 15BGL129); 广州市哲学社会科学“十三五”规划课题(编号: 2019GZGJ124)。

作者简介: 梁天宝(1982—), 男, 湖北天门人, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为地理标志与区域发展。E-mail: liangtb803@126.com。

[11] 于宗波, 杨恒山, 萨如拉, 等. 不同质地土壤玉米秸秆还田配施腐熟剂效应的研究[J]. 水土保持学报, 2019, 33(4): 234–240.

[12] 毛俊霞. 胶红酵母 *Rhodotorula mucilaginosa* TZR2014 的分离鉴定及其在断奶仔猪上的应用研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017.

[13] 庄荣玉, 王如晨, 邱晓挺, 等. 胶红酵母产生生物活性物质研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(1): 318–329.

[14] 马素梅, 曹钰, 宋春艳, 等. 利用木糖产油脂酵母的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. 中国油脂, 2017, 42(10): 115–120.

[15] 农业部种植业管理司. 有机物料腐熟剂: NY 609—2002[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002: 5–6.

[16] 李杰, 罗倩, 张琴萍, 等. 响应面法优化山葵酸菜加工工艺的研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(24): 83–90.

[17] 苏瑶, 贾生强, 何振超, 等. 利用响应曲面法优化秸秆腐熟剂

的腐解条件[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(5): 798–805.

[18] 李莉, 张赛, 何强, 等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(8): 41–45.

[19] 孙旭, 汝超杰, 苏良湖, 等. 3 种秸秆腐熟剂微生物组成及其腐熟效果[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(3): 212–215.

[20] 宋志伟, 陈露露, 潘宇, 等. 3 种菌剂对水稻秸秆降解性能的影响[J]. 生态环境学报, 2018, 27(11): 2134–2141.

[21] 孙佳静, 李貌, 孙志洪, 等. 胶红酵母产类胡萝卜素固态发酵工艺[J]. 中国农业科学, 2018, 51(10): 1982–1994.

[22] 李貌, 胶红酵母固态发酵工艺优化及其发酵产物对蛋鸡蛋品质及免疫性能的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2017: 28.

[23] 中华人民共和国农业部. 农用微生物菌剂: GB 20287—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006: 2.