

液体发酵因子对棘孢木霉 Tr148c 分生孢子产量的影响

王 军^{1,2}, 旷文丰¹, 陈 晨¹, 王承芳¹, 毛伟力^{1*}

(1. 上海万力华生物科技有限公司, 上海 201203; 2. 安徽农业大学, 合肥 230036)

摘 要: 研究营养成分(碳源和氮源)、初始 pH、温度、转速、装液量和接种量等因子对棘孢木霉菌株 Tr148c 在液体发酵过程中分生孢子产量的影响。首先采用马铃薯液体培养基(PDB)对以上各单因子进行测试, 并在此实验基础上进一步采用 3 水平 4 因子的正交试验, 对碳源、氮源、装液量和转数等因子进行优化测试。结果表明, 综合因子优化配方和发酵条件为: 当培养时间 144 h 时, 甘露醇(30 g·L⁻¹)、酵母粉(1 g·L⁻¹)、初始 pH 为 6、温度 30 °C、转速 200 r·min⁻¹、装液量 150 mL/500 mL、接种量 4%(v/v), 产分生孢子量可达到 2 × 10⁸ 个·mL⁻¹。

关键词: 棘孢木霉菌; Tr148c; 产分生孢子量; 液体发酵

中图分类号: S182

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2015)04-0595-05

Effect of liquid fermentation factors on conidial production of *Trichoderma asperellum* strain Tr148c

WANG Jun^{1,2}, KUANG Wenfeng¹, CHEN Chen¹, WANG Chengfang¹, MAO Weili¹

(1. Shanghai W.H.L.Bio-tech Corp., Shanghai 201203; 2. Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: A strain of *Trichoderma asperellum*-Tr148c isolated from a soil sample by Wanlihua Bio-Tech Company was used to study the effect of the factors of nutrient sources (carbon and nitrogen), initial pH, temperature, rotating speed and volumes of loaded liquid and inoculum on the production of conidial spores of Tr148c during the fermentation process. Potato dextrose broth (PDB) was initially used as a basic culture medium to test each individual factor, and an orthogonal test with four factors at three levels was then utilized. The results showed that the highest production of conidial spores (2.0 × 10⁸ cfu·mL⁻¹) was obtained after 144 h liquid cultivation with an optimal combination of the factors within a formula during the fermentation process, which are the nitrogen and carbon sources of mannitol 30 g·L⁻¹ and yeast powder 1 g·L⁻¹, respectively; initial pH, 6; temperature, 30 °C; rotatingspeed: 200 r·min⁻¹; volumes of loaded liquid and inoculums: 150 mL/500 mL and 4% (v/v), respectively.

Key words: *Trichoderma asperellum*; Tr148c; conidial production; liquid fermentation

木霉菌(*Trichoderma* spp.)属于半知菌亚门, 丝孢纲, 丝孢目, 粘孢菌类^[1]。该菌生长迅速并具有很强的生存适应能力, 能分泌酶和抗生素, 在植物病害生物防治中起着重要作用^[2]。早在 20 世纪 30 年代, 人们就发现了木霉菌对多种植物病原菌有拮抗作用^[3]。木霉菌的生防机制有竞争、分泌抗生素、重寄生和诱导抗性, 已被广泛地应用于农业生产^[4]。20 世纪 80 年代, 欧、美国家已开始了木霉菌制剂的商品化生产^[5]。木霉菌活孢子制剂是目前应用在农业生产中的主要形式^[6]。如何获得大量的木

霉菌孢子, 是制备木霉菌孢子制剂的关键技术。冯卫华等^[7]对绿色木霉菌液态培养条件定向控制研究, 通过对发酵时间、碳源、氮源、初始 pH 和培养温度等条件的优化, 最终使该绿色木霉菌产孢量提高到 2.00 × 10⁸ 个·mL⁻¹ 以上。王伟东^[8]在哈茨木霉对几种病原菌的拮抗作用及液体产孢培养条件的研究中分别考察了不同的初始 pH、转数、温度及有无光照对哈茨木霉产孢的影响, 优化结果较为理想。李琳^[9]研究的一株棘孢木霉菌(T31)对核盘菌、柑橘炭疽病、玉米纹枯病菌、尖孢镰刀菌、玉米大斑

收稿日期: 2014-12-15

基金项目: 上海市科委科技支撑项目“新型微生物农药的研发与开发”(13391901700)资助。

作者简介: 王 军, 工程师, 硕士研究生。E-mail: lwjwxs@hotmail.com

* 通信作者: 毛伟力, 博士。E-mail: weilimao@hotmail.com

病菌、人参锈腐病菌、禾谷镰刀菌和腐霉菌抑菌率为 44.5%~77.9%，其中对玉米大斑病抑制效果最好，利用光学显微镜可清晰观测到木霉菌菌株 T31 对玉米灰斑病菌的重寄生现象。但目前对棘孢木霉液体发酵产分生孢子条件优化的报道较少。为此，作者就棘孢木霉 Tr148c 摇瓶液体发酵产分生孢子条件进行了探讨。首先通过单因素试验筛选出最佳碳源、氮源和发酵条件，如初始 pH、温度、装液量、摇床转速等。再利用正交试验法筛选出最佳综合发酵条件，为进一步的中试和产业化生产提供了理论依据和技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试菌株 棘孢木霉菌(*Trichoderma asperellum*) Tr148c 菌株，由本实验室人员分离自安徽合肥的土壤样品，该菌株现保存在 CGMCC (中国普通微生物菌种保藏管理中心)，保存号为 No.5201。

1.1.2 供试培养基 铃薯葡萄糖琼脂培养基和马铃薯培养液。

1.2 方 法

1.2.1 种子液制备 将分离得到的 Tr148c 转移并接种在 PDA 平板培养基上，培养 72 h (自然光照，28℃)，无菌条件下刮取分生孢子，用无菌水配成分生孢子悬浮液，孢子含量为 5×10^7 个·mL⁻¹ (采用血球计数法统计分生孢子数目)。

1.2.2 发酵液培养条件 该菌种发酵培养条件为 28℃、150 r·min⁻¹，培养基初始 pH 为 6，装液量为用 500 mL 摇瓶装 100 mL 培养液 (100 mL/500 mL)，接种量为 2% (v/v)，每个处理重复 3 瓶，培养 144 h 后统计分生孢子数 (采用血球计数法统计分生孢子数目)，计数结果取平均值。

1.2.3 碳源对产孢量的影响 选择 PDB 为基础培

养液，测试碳源分别为蔗糖、葡萄糖、甘露醇、可溶性淀粉、麦芽糖和甘油，每种碳源测试用量为 10、20 和 30 g·L⁻¹。

1.2.4 氮源对产孢量的影响 选择 PDB 为基础培养液，测试氮源分别为蛋白胨、酵母粉、尿素、硫酸铵、半胱氨酸、丙氨酸、硝酸钾和谷氨酸共 8 种氮源，每种氮源测试用量为 1、2 和 3 g·L⁻¹。

1.2.5 初始 pH 值对产孢量的影响 测试培养基初始 pH 值设为 2、3、4、5、6、7、8、9 和 10 共 9 个处理，用优化碳、氮源后的培养液培养，除了本处理外，其他处理的培养条件与以上 1.2.2 相同。

1.2.6 温度对产孢量的影响 测试温度设定为 24℃、26℃、28℃、30℃、32℃ 和 34℃，用优化碳、氮源后的培养液培养，除了本处理外，其他处理的培养条件与以上 1.2.2 相同。分别在 96、120 和 144 h 进行无菌条件下取样并统计分生孢子数。

1.2.7 转速对产孢量的影响 将测试摇床转速设为 100、150、200、250 和 300 r·min⁻¹，用优化碳、氮源后的培养液培养，除了本处理外，其他处理的培养条件与以上 1.2.2 相同。

1.2.8 装液量对产孢量的影响 测试使用的摇瓶为 500 mL。将摇瓶装液量设为 50 mL/500 mL、100 mL/500 mL、150 mL/500 mL、200 mL/500 mL、250 mL/500 mL 和 300 mL/500 mL 共 6 个处理，用优化碳、氮源后的培养液培养，除了本处理外，其他处理的培养条件与以上 1.2.2 相同。

1.2.9 接种量对产孢量的影响 按照体积/体积比，将测试接种量设为 2%、4%、6% 和 8% (v/v) 4 个处理，即接种分生孢子悬浮液体积分别为 2 mL、4 mL、6 mL 和 8 mL，接种孢子量分别为 0.1×10^7 、 0.2×10^7 、 0.3×10^7 和 0.4×10^7 个·mL⁻¹，用优化碳、氮源后的培养液培养，除了本处理外，其他处理的培养条件与以上 1.2.2 相同。

表 1 正交试验因子水平测试

Table 1 Factors and levels of the orthogonal test

水平 Level	因素 Factor			
	A 甘露醇/% Mannitol	B 酵母粉/% Yeast powder	C 装液量/mL·500 mL ⁻¹ Inoculum concentration	D 摇床转速/r·min ⁻¹ Rotating speed
1	1	0.1	100	150
2	2	0.2	150	200
3	3	0.3	200	250

1.2.10 发酵工艺最佳组合选择 根据以上单因子试验结果，进一步选择甘露醇、酵母粉、装液量和摇床转速作为 4 个复合测试因子，并在他们各自的

单因子试验结果中选取 3 个最佳数据作为测试水平，采用正交试验方法，以分生孢子产量为指标，设计一个 L₉(3⁴)4 因素 3 水平的正交试验^[10] (如表

1), 对各培养条件组合进行筛选和验证。

2 结果与分析

2.1 碳源筛选

结果如图 1 表明, 在液体发酵过程中, *Tr148c* 分别以蔗糖、葡萄糖、甘露醇、可溶性淀粉、麦芽糖和甘油作为碳源时, 产分生孢子数均以培养基中的碳源含量为 $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最高。另外, 以甘露醇作为培养基中的碳源时, 产分生孢子数高于以蔗糖、葡萄糖、可溶性淀粉、麦芽糖、甘油在培养基中作为碳源, 产分生孢子数可达 7.5×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 利用蔗糖作为碳源时, 产分生孢子数次之, 以甘油作为碳源时, 产分生孢子数最低, 仅为 2.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。因此, 在该单因子试验中, 培养基中含 $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 甘露醇为最佳碳源量。

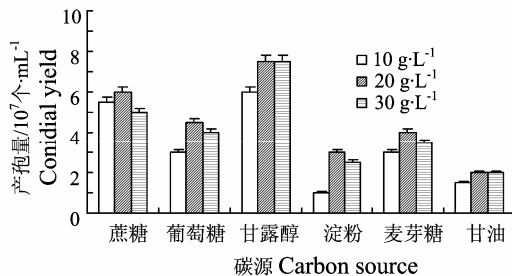


图 1 碳源对棘孢木霉菌株 *Tr148c* 产分生孢子量的影响
Figure 1 Effect of different carbon sources on the yield of conidia produced by *T.asperellum* strain *Tr148c*

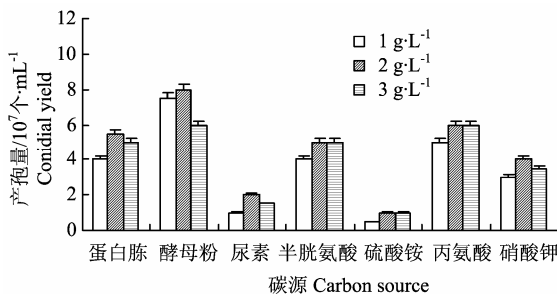


图 2 氮源对棘孢木霉菌株 *Tr148c* 产分生孢子量的影响
Figure 2 Effect of different nitrogen sources on the yield of conidia produced by *T.asperellum* strain *Tr148c*

2.2 氮源筛选

氮源筛选结果如图 2 所示。在液体发酵过程中, 菌株 *Tr148c* 以蛋白胨、酵母粉、尿素、半胱氨酸、硫酸铵、丙氨酸、硝酸钾和谷氨酸作为氮源时, 产分生孢子数均以培养基中的氮源含量为 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最高。另外, 以酵母粉作为培养基中的氮源时, 产分生孢子数高于以蛋白胨、尿素、半胱氨酸、硫酸铵、丙氨酸、硝酸钾和谷氨酸在培养基中作为氮源, 产分生孢子数可达 8.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 其他有机氮物质

作为氮源时, 产分生孢子数次之, 而以无机氮物质 (硫酸铵、硝酸钾) 作为氮源培养时, 产分生孢子数最低, 仅为 1.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。因此, 在该单因子试验中, 培养基中含 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酵母粉为最佳氮源量。

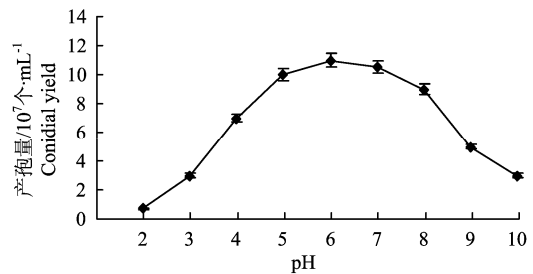


图 3 初始 pH 值对棘孢木霉菌株 *Tr148c* 分生孢子量影响
Figure 3 Effect of initial pH on the yield of conidia produced by *T.asperellum* strain *Tr148c*

2.3 初始 pH 对产孢量的影响

初始 pH 值对产孢量的影响如图 3。结果表明, *Tr148c* 在培养基初始 pH 为强酸性 2~4 或强碱性 9~10 的条件下, 产分生孢子数都低于 6.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 而当初始 pH 为 5~8 条件下, 产分生孢子数均达到 8.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 其中当初 pH 为 6 时, 产分生孢子数最高, 为 11.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。因此, 在该单因子试验中, 培养基初始 pH 为 6 时为最佳初始 pH 值。

2.4 温度对产孢量的影响

温度对产孢量的结果如图 4。结果表明, *Tr148c* 的分生孢子数随着温度升高而增多。在 24°C 时产分生孢子数最低, 为 2.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 在 30°C 条件下培养时, 分生孢子数达到最高, 为 11.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 而超过 $30\sim 34^\circ\text{C}$ 范围内, 分生孢子数开始降低。因此, 在该单因子试验中, 发酵培养最佳温度为 30°C 。

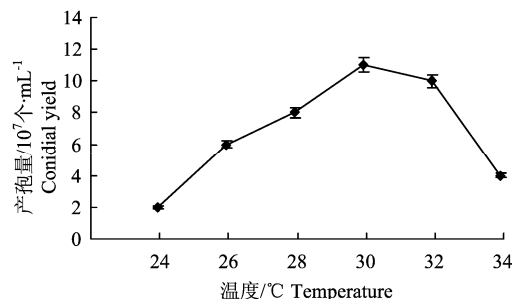


图 4 温度对棘孢木霉菌株 *Tr148c* 分生孢子量的影响
Figure 4 Effect of temperature on the yield of conidia produced by *T.asperellum* strain *Tr148c*

2.5 转数对产孢量的影响

转数对产孢量的影响结果如图 5。结果表明, 菌株 *Tr148c* 在 $100\sim 200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 范围内培养时,

Tr148c 产分生孢子数随着转速升高而增多。其中, 在 $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时产分生孢子数最低, 为 4.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 在 $200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下培养时, 分生孢子数达到最多, 为 11.5×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 而在 $200 \sim 300 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 范围内, 产分生孢子数开始降低。因此, 在该单因子试验中, 发酵培养最佳转速为 $200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

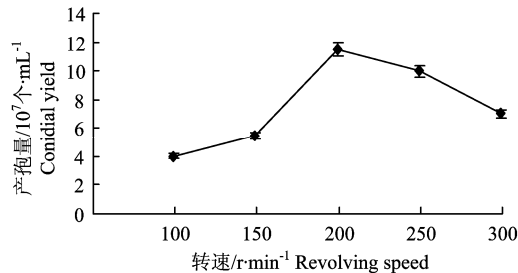


图 5 转速对棘孢木霉菌株 Tr148c 分生孢子量的影响

Figure 5 Effect of rotation of speed on the yield of conidia produced by *T. asperellum* strain Tr148c

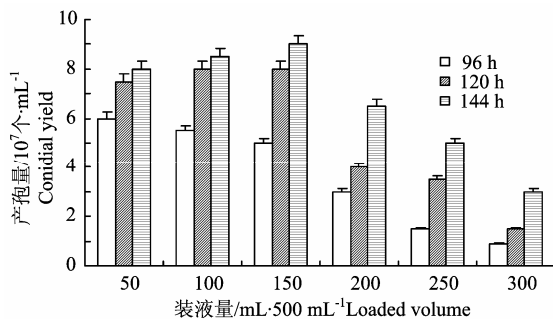


图 6 装液量对棘孢木霉菌株 Tr148c 分生孢子量的影响

Figure 6 Effect of loaded volume on the yield of conidia produced by *T. asperellum* strain Tr148c

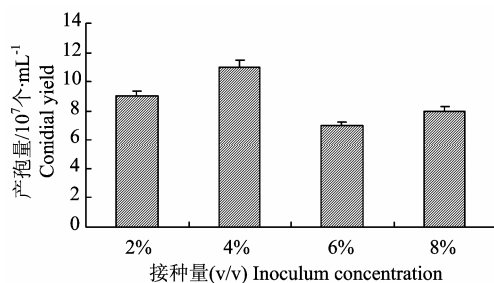


图 7 接种量对棘孢木霉菌株 Tr148c 分生孢子量的影响

Figure 7 Effect of volume of loaded inoculum on the yield of conidia produced by *T. asperellum* strain Tr148c

2.6 装液量产孢量的影响

在液体发酵过程中, 装液量对产孢量的影响结果如图 6。结果表明, 产分生孢子数均以培养时间到达 144 h 时为最高。当装液量低于 $150 \text{ mL}/500 \text{ mL}$ 时, 即发酵培养容器中的溶氧量相对较高时, 培养时间为 96 h, 产分生孢子数均达到或超过 5.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$; 当培养时间为 120 h 至 144 h 时, 产分生孢子数变化范围从 $7.5 \times 10^7 \sim 9.0 \times 10^7$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。随着

装液量增多, 该菌株产孢量降低, 可见提高溶氧量可提高产分生孢子量和产分生孢子速度。另外, 以装液量为 $150 \text{ mL}/500 \text{ mL}$ 时, 产分生孢子数高于其他所有的装液量, 产分生孢子数为 9.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。因此, 在该单因子试验中, 发酵时间为 144 h, $150 \text{ mL}/500 \text{ mL}$ 为最佳装液量。

2.7 接种量对产孢量的影响

在液体发酵过程中, 接种量对发酵培养中孢子数的影响见图 7。结果表明, 产分生孢子数分别为 9.0×10^7 、 11.0×10^7 、 7.0×10^7 和 8.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 当接种量为 4% (v/v) 时, 产分生孢子数最高, 为 11.0×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。因此, 在该单因子试验中, 以接种量为 4% (v/v) 作为最佳接种量。

表 2 3 水平 4 因子正交试验结果

Table 2 Results from the orthogonal test with four factors at three levels

	A	B	C	D	产孢量/ $\times 10^7$
					Production of conidial spores
1	1	1	1	1	9
2	1	2	2	2	11
3	1	3	3	3	6
4	2	1	2	3	11
5	2	2	3	1	6
6	2	3	1	2	8
7	3	1	3	2	10
8	3	2	1	3	11
9	3	3	2	1	7
k_1	8.7	10.0	9.3	7.3	
k_2	8.3	9.3	9.7	9.7	
k_3	9.3	7.0	7.3	9.3	
K_1	26.0	30.0	28.0	22.0	
K_2	25.0	28.0	29.0	29.0	
K_3	28.0	21.0	22.0	28.0	
R	1.0	3.0	2.3	2.3	

2.8 正交试验

由表 2 正交试验结果看出, 极差 $\text{RB} > \text{RC} = \text{RD} > \text{RA}$, 4 个因子中对 Tr148c 产分生孢子数的影响主次顺序一次为: 酵母粉(B) > 装液量(C) = 转速(D) > 甘露醇(A)。各因子 k 值的最大值分别为 A3、B1、C2 和 D2, 即 9.3、10.0、9.7 和 9.7, 得到甘露醇(A)、酵母粉(B)、装液量(C)和转速(D)4 个因子最佳组合为 A3、B1、C2 和 D2, 即甘露醇含量 $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 酵母粉含量 $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 装液量 $150 \text{ mL}/500 \text{ mL}$, 转速 $200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.9 验证实验

按 A3、B1、C2 与 D2 的组合, 即甘露醇含量 $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、酵母粉含量 $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、装液量 $150 \text{ mL}/500 \text{ mL}$ 、转速 $200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 其他培养条件采用以上单因子试验

中最佳条件: 初始 pH 为 6、温度 30℃、接种量 4%、培养时间 144 h, 对 Tr148c 进行发酵培养产分生孢子数测试, 重复 3 次实验, 最终 Tr148c 产分生孢子数平均值为 2×10^8 , 基本符合试验预期要求。因此, 综合优化配方和发酵条件为: 当培养时间 144 h 时, 甘露醇 ($30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、酵母粉 ($1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、初始 pH 为 6、温度 30℃、转速 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、装液量 150 mL/500 mL、接种量 4%。这与台莲梅等^[2]对长枝木霉产孢研究结果 30℃ 为最佳产分生孢子数的温度相符合。

3 小结与讨论

王淑军等^[11]研究表明, 适宜的非蛋白氮源如尿素或铵盐, 可有效促进木霉菌体的生长。在本文单因子试验中, 以 PDB 为基础培养基, 加入有机氮源, 更有利于木霉菌 Tr148c 产生分生孢子, 其中加入 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 酵母粉时, 产分生孢子数可达 8.0×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$; 甘露醇为最佳碳源, 有利于木霉菌 Tr148c 的分生孢子的产生, 与台莲梅等研究相符^[2]。在单因子试验中甘露醇含量 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、酵母粉含量 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最佳, 而在正交试验中对复合因子作产分生孢子测试时, 则是甘露醇含量 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、酵母粉含量 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最佳, 可能原因是当培养条件(温度、溶氧量等)变化时, 菌体对营养物质的需求量和代谢方式会随着变化, 从而导致最终的生物量的变化, 包括产分生孢子量的变化。王英姿等^[12]在对绿色木霉菌固体发酵产孢优化研究中, 采用正交方法对培养基中不同成分(4 因素)不同含量(3 水平)进行筛选, 最终产孢子量提高 3 倍。而温度、pH 是微生物生长和产物代谢的重要影响参数, 温度影响酶的活性, 而酶催化在微生物的代谢中的影响至关重要; pH 则影响细胞膜的表面电荷, 使细胞膜渗透性改变, 从而影响菌体对营养物质的吸收和产物的分泌。因此, 选择合适的温度和 pH 值对菌株发酵极其重要; 装液量和摇床转速影响微生物对氧的需求和与营养物质传递交换效率, 氧气、转速过低则不利于菌体生长, 并产生酸性中间代谢产物并积累, 降低环境 pH, 影响菌体生长; 氧气、转速过高则加速菌体老化, 进而影响菌体代谢及产物累积, 所以合适的装液量和转速能较好的促进微生物生长和产孢^[13]。接种量的影响则表现为, 初始接种量过小微生物生长缓慢, 延长发酵周期; 过大则生长过快, 提前消耗完营养物质, 影响最终生物量的大小。本试验对 Tr148c 摇瓶液态发酵产孢条件进行的产分生孢子测试, 结果符合预期要求, 为进一步的中试和产业化生产提供

了理论依据和技术支撑。

目前在农业生产中对作物病害的防治主要依靠抗性品种和化学防治, 但频繁、高剂量的化学药剂防治已对环境和食品造成了严重污染, 危及人类健康, 同时还引起病原菌对化学农药的抗性等问题; 对作物根际土壤有益微生物区系造成破坏, 使作物的自然抗病能力减弱。木霉菌是一类重要的生防真菌, 国内外已经有商品化的木霉菌制剂, 其中应用最多的有绿色木霉和哈茨木霉^[14]。棘孢木霉作为木霉菌的一种, 国内关于其在生物防治中应用的报道还不多。本试验探讨了 Tr148c 在液体发酵过程中, 对影响其产分生孢子数的条件进行优化, 为棘孢木霉作为生物防治产品在农业生产中的应用提供了必要的技术数据。

参考文献:

- [1] 惠有为, 孙勇, 潘亚妮, 等. 木霉在植物真菌病害防治上的作用[J]. 西北农业学报, 2003, 12(3): 96-99.
- [2] 台莲梅, 高俊峰, 张亚玲, 等. 拮抗长枝木霉 T115D 菌株发酵条件[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(10): 333-334.
- [3] Wenindling R. Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma hamatum* on *Rhizoctonia solaniani* and other soil fungi[J]. Phytopathology, 1932, 22: 837-845.
- [4] 高雪丽, 吴坚平, 徐刚, 等. 侧钩木霉的分离、鉴定及产孢条件优化[J]. 中国生物工程杂志, 2014, 34(2): 84-92.
- [5] 高克祥, 刘晓光, 郭润芳, 等. 木霉菌对五种植物病原真菌的重寄生作用[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2002, 33(1): 37-42.
- [6] 池玉杰, 伊洪伟, 艾志强, 等. 深绿木霉产孢条件优化[J]. 中国农学通报, 2013, 29(28): 42-45.
- [7] 冯卫华, 黄东升, 蒋雨, 等. 绿色木霉菌液态培养条件的定向控制[J]. 中国食品学报, 2011, 11(6): 84-88.
- [8] 王伟东, 高亚梅, 韩毅强, 等. 哈茨木霉对几种病原菌的拮抗作用及液体产孢培养条件的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2010, 22(6): 4-8.
- [9] 李琳. 棘孢木霉菌的分离及其生防作用的评价与应用[D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- [10] 张吉祥, 欧来良. 正交试验法优化超声提取枣核总黄酮[J]. 食品科学, 2012, 33(4): 18-21.
- [11] 王淑军, 杨从发, 陈静, 等. 非蛋白氮对单细胞蛋白生产菌株生长影响的研究[J]. 淮海工学院学报: 自然科学版, 2002, 11(1): 48-51.
- [12] 王英姿, 祁之秋, 魏松红, 等. 绿色木霉菌固体发酵培养基优化组合正交筛选[J]. 植物保护, 2007(2): 61-63.
- [13] 余龙江. 发酵工程与技术应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [14] 郝林华, 牛德庆, 陈靠山, 等. 拟康氏木霉液态发酵条件的研究[J]. 菌物学报, 2005, 24(2): 235-244.