

添加枯草芽孢杆菌对蛹虫草菌糠堆积发酵及其菌群的影响

罗茂春^{1,2}, 王晓峰¹, 陈小红¹, 林标声^{1,2}

(1. 龙岩学院生命科学学院, 龙岩 364012; 2. 福建省家畜传染病防治与生物技术重点实验室, 龙岩 364012)

摘要:以蛹虫草菌糠为原料, 添加枯草芽孢杆菌活菌剂研究其堆积发酵过程中相关物化指标及其细菌群落组成变化。以蛹虫草菌糠在堆积发酵过程中温度的6个变化时期为依据, 选定第0、6、16、20和30天5个时期的发酵样品作为研究对象。结果表明, 在蛹虫草菌糠的整个发酵过程中, 发酵温度和pH先升高后降低, 含水量和C/N逐渐下降, 可溶性总糖逐渐增加。发酵20d时, 发酵温度在峰值开始缓慢下降, 水分、pH、C/N和可溶性总糖基本稳定。各样品的细菌群落分析表明, 5个样品中分别得到了3万~4万多条的有效序列, 共同拥有532个相同的OTUs, 其OTUs和多样性指数均表现出先升高后降低的趋势。厚壁菌门、芽孢杆菌属(*Bacillus*)为各样品的主要门类 and 核心属, 在各样品中占比最大、丰度最高。随着发酵时间的延长, 各样品中细菌群落组成的种类及丰度逐渐降低, 至20d时趋于稳定。属水平上的PCA主成分分析表明, 0d、6d样品和20d、30d的样品聚为一类、16d样品再聚为另一类。总之, 发酵过程中相关物化指标及细菌群落组成变化表明蛹虫草菌糠发酵第20天为发酵成熟期, 此时发酵样品趋于成熟、稳定。

关键词: 蛹虫草菌糠; 枯草芽孢杆菌; 堆积发酵; 高通量测序; 细菌群落; 多样性

中图分类号: S816.73

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2018)03-0422-06

The effect of *Bacillus subtilis* on the piling fermentation and flora from spent mushroom substrate of *Cordyceps militaris*

LUO Maochun^{1,2}, WANG Xiaofeng¹, CHEN Xiaohong¹, LIN Biaosheng^{1,2}

(1. College of Life Science, Longyan University, Longyan 364012;

2. Fujian Provincial Key Laboratory for the Prevention and Control of Animal Infectious Diseases and Biotechnology, Longyan 364012)

Abstract: In this paper, the spent mushroom substrate of *Cordyceps militaris* was used for piling fermentation with *Bacillus subtilis* biological agent, and the relative physicochemical indexes and changes of bacterial community composition in the fermentation process were studied. Based on the six change periods of the temperature during the fermentation process, the fermentation samples for 0, 6, 16, 20 and 30 days were selected. The results showed that during the whole fermentation, the fermentation temperature and pH increased firstly and then decreased and water content and C/N decreased gradually, while the total soluble sugar content increased gradually. On the 20th day of fermentation, the temperature reached its peak, and then began to decline slowly, while water, pH, C/N and total soluble sugar content basically kept stable. Microbial community analysis of each sample indicated that more than 30000-40000 useful sequences were obtained from 5 samples and they shared 532 identical OTUs in common. OTUs and diversity index in 5 samples showed the trend of increasing firstly and then decreasing. *Firmicutes* and *Bacillus* were the main phyla and core genus, respectively, which had the largest proportion and the highest abundance in each sample. With the extension of fermentation time, the species composition and abundance of bacterial community in each sample decreased gradually, and tended to be stable on the 20th day of fermentation. The principal component analysis of PCA at the genus level showed that samples of the 0th, 6th, 20th and 30th day were clustered into one class, and samples of the 16th day were clustered into another. As a whole, the 20th day was the mature fermentation stage at the piling fermentation for spent mushroom substrate of *Cordyceps militaris*, and the samples from this time tended to be mature and stable.

收稿日期: 2017-08-29

基金项目: 龙岩市科技计划项目(2014LY63)和福建省大学生创新创业训练计划项目(S20181019)共同资助。

作者简介: 罗茂春, 教授。E-mail: fjlylmc@163.com

Key words: spent mushroom substrate of *Cordyceps militaris*; *Bacillus subtilis*; piling fermentation; high-throughput sequencing; bacterial community; diversity

蛹虫草 (*Cordyceps militaris*), 又名北蛹虫草、北冬虫夏草, 作为冬虫夏草的替代品在我国许多地方均有种植, 人工栽培蛹虫草技术的成功使其得到了大量推广应用^[1]。然而, 人工栽培蛹虫草每 100 g 干料仅能产生 60 g 左右的子实体, 所需物料较大, 其所产生的菌糠也较多^[2]。近年来, 随着蛹虫草栽培规模的不断扩大, 其菌糠的处理与再利用问题日趋受到重视。研究表明, 与香菇、杏鲍菇、金针菇和平菇等常见食用菌菌糠相比, 大米为主要基质的蛹虫草菌糠中含有丰富的营养成分, 除了丰富的粗蛋白、粗脂肪和食用菌多糖等营养成分外, 还含有 17 种水溶性的氨基酸, 其总氨基酸的含量最高, 中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量最低、粗水分含量也最低^[3-4], 因此非常适合用于作为畜禽动物精细饲料的配料, 用以开发成各种饲料添加剂。

研究表明, 以食用菌菌糠为原料, 添加乳酸菌、枯草芽孢杆菌和酵母菌等益生菌菌剂能加速菌糠的升温及降温过程, 同时加快了有机质的降解和腐熟; 添加的菌剂还含有丰富的酶类, 其对降低菌糠的纤维成分和有害物质, 提高其营养价值和适口性均具有较为明显的促进作用^[5]。食用菌菌糠开发成适合猪、牛和羊等畜禽动物饲喂的发酵饲料, 对实现食用菌菌糠资源的合理化应用、提升产业价值提供了一条新的思路 and 方向^[6]。因此, 以蛹虫草菌糠为原料, 添加单一枯草芽孢杆菌活菌剂, 分析蛹虫草菌糠堆积发酵过程中相关物化指标和细菌群落组成的变化, 旨在为蛹虫草菌糠的饲料化利用及其产业发展提供基础数据和理论参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

蛹虫草菌糠: 由福建兰华农业生物科技有限公司提供, 碳氮比 (C/N) 28.65, 有机碳 38.12%, 总氮 1.42%, pH7.25。

枯草芽孢杆菌菌剂: 由本实验室筛选、保存, 有效菌含量 2×10^{10} CFU·g⁻¹, 使用时先加入少量红糖水活化。

1.2 蛹虫草菌糠的堆积发酵方法

挑选新采摘、无霉变、品相良好的蛹虫草菌糠, 按 2.5 g·kg⁻¹ 量接入发酵菌剂、混合均匀, 在干净水泥地面常温下堆积成小垛, 每垛 5 kg 左右, 调节水分在 50%~60%, 表面用薄膜覆盖、压实。小垛堆

积在 26℃ 的恒温空调房内, 当测定小垛温度变化较大、胀气明显时需翻堆一次, 共发酵 30 d。

1.3 发酵过程中的相关指标分析及微生物群落组成分析

采用手持探针数显温度计 (型号 LCD-281S) 每隔 2 d 直接插入发酵小垛内部进行温度测定, 监测发酵过程中温度的变化, 选定温度变化的几个主要时期进行取样。取样时选用多点采样法, 需掀开小垛的覆盖薄膜取样, 每点取样 5 g 左右。同一时期各取样点样品充分混合均匀, 测定混合样品的水分、pH、有机碳、总氮含量和 16S rRNA, 分析各时期发酵过程中主要物化指标和微生物菌群的变化情况。

样品水分采用烘干法测定; pH 采用 pH 计 (型号 FE-20) 测定; 可溶性总糖含量参照采用蒽酮比色法测定^[7]; 有机碳、总氮的测定参考《饲料分析与检测》进行^[8]。

微生物群落的组成分析: 对取样样品进行 16S rRNA V3~V4 可变区扩增和高通量测序。引物序列为: 前引物 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3', 后引物 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'; PCR 反应体系 (25 μL): 5×reaction buffer 5 μL, 5×GC buffer 5 μL, dNTP (100 mmol·L⁻¹) 2 μL, Forward primer (10 μmol·L⁻¹) 1 μL, Reverse primer (10 μmol·L⁻¹) 1 μL, Q5 High-Fidelity DNA Polymerase 0.25 μL, DNA Template 2 μL, ddH₂O 8.75 μL; PCR 反应条件为: 98℃ 变性 2 min, 98℃ 变性 15 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 扩增 25~30 个循环, 最后于 72℃ 延伸 5 min。扩增结果进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 切取目的片段然后用 Axygen 凝胶回收试剂盒回收目的片段, 随后交由上海某生物技术公司使用 Miseq (Illumina) 高通量测序平台进行序列测定和分析^[9]。

2 结果与分析

2.1 发酵过程中温度的变化分析

所制备的蛹虫草菌糠堆积小垛不同发酵时间的温度变化如图 1 所示, 因添加了发酵菌株, 蛹虫草菌糠的发酵迅速开始, 其温度经历了初温期、升温期、高温期、保温期、降温期和稳定期的 6 个时期的变化。与室温做比较, 蛹虫草菌糠堆积小垛在第 6 天开始显著的升温, 16 d 达到了峰值、高温一直持续到第 20 天。随后发酵温度开始下降, 24 d 后基本稳定直至发酵结束, 接近室温。综上考虑, 本研

究选定发酵的第0、6、16、20和第30天5个时期作为取样时间，研究蛹虫草菌糠发酵过程中主要物化指标和微生物菌群的变化情况。

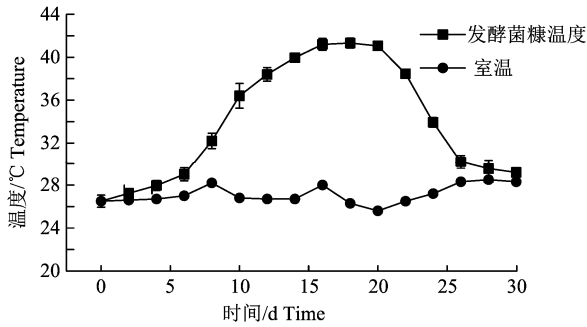


图1 发酵过程中温度的变化曲线

Figure 1 Curves of temperature changes during fermentation

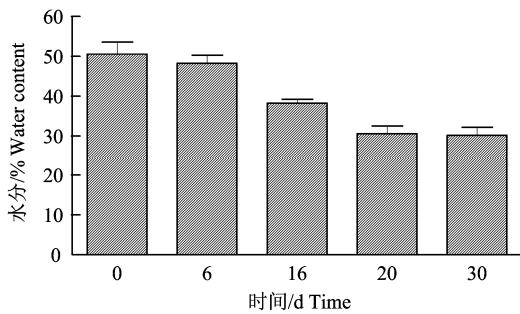


图2 发酵过程中含水量的变化

Figure 2 Water content changes during fermentation

2.2 各时期样品主要物化指标的变化分析

对第0、6、16、20和第30天5个时期的取样样品分别进行了含水量、pH、碳氮比(C/N)和可溶性总糖含量等发酵过程几个主要物化指标的测定。含水量的变化(如图2)显示:发酵物料的含水量和发酵温度相关。发酵初期,温度升高较慢,发酵物料的含水量下降缓慢;随着发酵温度的升高,发酵物料水分逐渐大量挥发、丧失,其含水量明显下降;20 d保温期结束时,发酵物料含水量下降到30.6%,

随后基本稳定直至发酵结束。pH、碳氮比(C/N)和可溶性总糖的变化结果(如图3)显示:发酵初期,接入的菌剂开始生长,发酵菌糠中的有机质开始被分解,C源降低,并可能产生了部分的氨气和可溶性糖^[10],pH逐渐上升,C/N开始下降,可溶性总糖开始增加;随着发酵时间的延长,菌株大量生长,有机质被进一步分解,可溶性糖大量增加,C/N迅速下降,产生了大量氨气,pH上升直至16 d时达到峰值7.53;发酵后期,由于菌株不再大量生长,有机物质利用量减少,可溶性糖、氨气产生量减少,前面产生的氨气在翻料时挥发损失,再加上部分的菌株产生了有机酸,16 d后发酵物料C/N继续下降,pH也开始下降,可溶性总糖增幅减少,直至20 d趋于稳定维持至发酵结束。碳氮比是饲料、肥料堆积发酵过程中一个重要的指示标志,一般当C/N<20时发酵物料基本成熟。本研究中,发酵20 d时,其C/N为19.89,表明此时发酵物料已成熟,发酵将基本趋于稳定^[11]。此外,随着发酵时间的延长,样品中的可溶性总糖含量逐渐增加,而这些小分子量的可溶性糖很容易被畜禽动物作为营养物质吸收利用,能对动物的生长起着一定的促进作用^[12]。

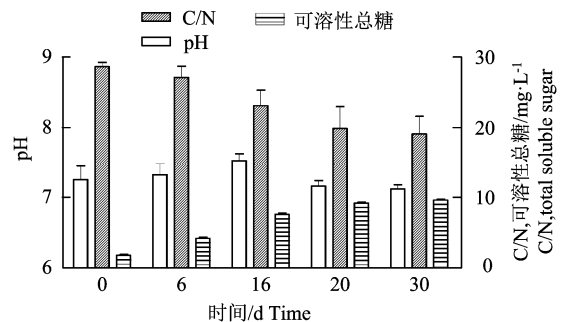


图3 发酵过程中pH、C/N和可溶性总糖的变化

Figure 3 The changes of pH,C/N and total soluble sugar during fermentation

表1 各样品的测序数据及OTUs、多样性指数统计

Table 1 Sequencing data, OTUs and diversity index statistics in each sample

对象 Target	取样时间/d Sampling time	有效序列 No. of valid sequence	OTUs	多样性指数 Diversity index			
				ACE	Chao1	Shannon	Simpson
16sRNA	0	41 556	787	514.84	514.90	5.93	0.82
	6	34 996	942	590.21	596.43	5.89	0.83
	16	35 631	1 020	629.52	629.52	6.32	0.84
	20	40 304	1 068	636.39	653.50	6.45	0.85
	30	34 804	938	540.92	537.71	5.55	0.83

2.3 菌糠发酵小垛的细菌群落多样性分析

2.3.1 各样品的测序结果质量分析 蛹虫草菌糠堆积小垛5个时期取样样品的16S rRNA V3~V4可变

区扩增获得的有效序列、OTUs数量和菌群微生物多样性指数如表1所示。5个样品分别得到3万~4万多条的有效序列,经统计各样品的序列长度主要分

布在 450 bp 左右。随着发酵时间的延长, 样品的 OTUs 数量及菌群微生物多样性指数 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 均是先升高再降低, 在 20 d 时数值最大, 表明蛹虫草菌糠堆积发酵过程中其细菌菌群的丰度和多样性的变化趋势均为先逐步升高再降低, 在 20 d 时达到峰值, 其变化趋势与各样品温度和主要物化指标的变化趋势一致。各样品 OTUs 之间关系的 Venn 图分析结果 (如图 4) 显示, 5 个样品特有的 OTUs 分别为 135、161、229、445 和 258, 共同拥有 532 个相同的 OTUs, 表明各样品中存在着大量的相同菌群组成。各样品的稀释度曲线如图 5, 5 条曲线均趋向平坦, 表明所测序数据量合理, 所测的样品中包括了大多数细菌类群, 所测的结果能比较真实地反应样品的微生物群落多样性^[13]。

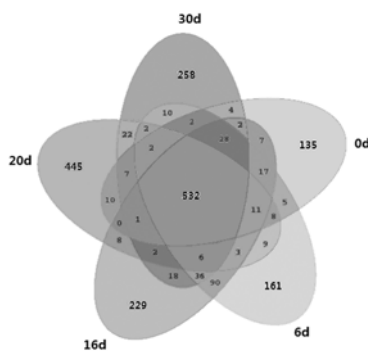


图 4 5 个样品的 Vennt 图

Figure 4 The Vennt diagram of five samples

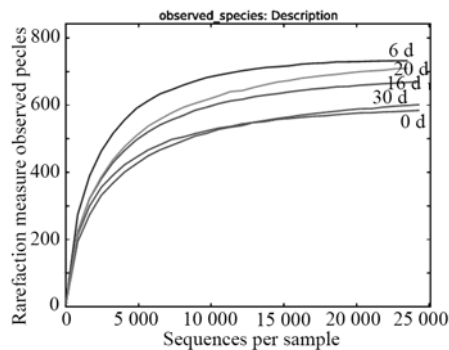


图 5 5 个样品的稀释度曲线

Figure 5 Rarefaction curves of five samples

2.3.2 各样品细菌群落的门和属的分布 从门的分类水平来看 (图 6), 添加枯草芽孢杆菌的蛹虫草菌糠的不同发酵样品中所含的门类较少, 主要为厚壁菌门 (*Firmicutes*)、变形菌门 (*Proteobacteria*) 和放线菌门 (*Actinobacteria*), 其中厚壁菌门丰度最高, 从 64.5%~96.3%, 是各个样品中的含量最丰富的菌。各样品中所含丰度较高的其他门类还有拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、纤维杆菌门 (*Fibrobacteres*)、芽单胞菌门 (*Gemmatimonadetes*) 和梭杆菌门

(*Fusobacteria*), 这些门类在各样品中的分布不均匀, 丰度含量变化较大, 如拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) 在 16 d 的样品中占比最高可达 4.8%, 但在其他样品中丰度均小于 1%。此外各样品中还有一些不能确定归属或者含量极少不易确定的门类, 统一归属到 Other。

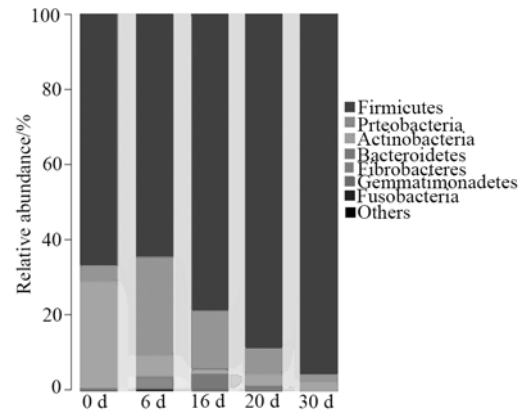


图 6 各样品在门分类水平上主要细菌类群比较

Figure 6 Comparison of the major bacterial class in each sample at phylum level

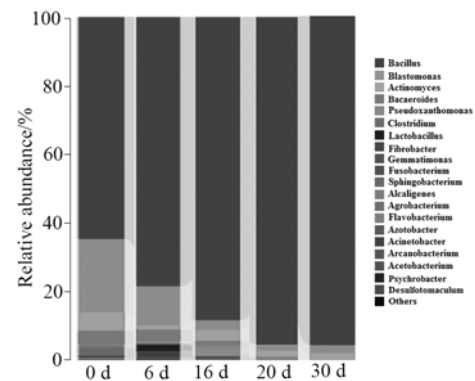


图 7 各样品在属分类水平上主要细菌类群比较

Figure 7 Comparison of the major bacterial class in each sample at genus level

在属的水平上, 取所有样品中平均相对丰度前 20 菌群, 剩余所有分类单元都归为“Other”后再作图, 观察蛹虫草菌糠在不同发酵时期的细菌菌群分布变化情况 (图 7)。结果表明, 各样品中丰度最高菌属均为芽孢杆菌属 (*Bacillus*), 其丰度从发酵初期 0 d 样品的 91.5% 一直上升到发酵末期 30 d 样品的 94.2%, 表明所添加的外援菌剂枯草芽孢杆菌在蛹虫草菌糠发酵过程中起到了主要作用。样品中存在着一些较大丰度的菌属, 如拟杆菌属 (*Bacaeroides*)、假黄单胞菌属 (*Pseudoxanthomonas*)、梭菌属 (*Clostridium*) 和纤维杆菌属 (*Fibrobacter*) 等, 该类菌属细菌具有很强的分解纤维素、半纤维素和木质素的能力^[14], 对蛹虫草菌糠中营养物质的转化和

畜禽饲料的制备具有良好的促进作用。此外,样品中还存在着一定的比例的制备微生物菌肥常用的菌属,如放线菌属(*Actinomyces*)、产碱菌属(*Alcaligenes*)、土壤杆菌属(*Agrobacterium*)和固氮菌属(*Azotobacter*)等,表明蛹虫草菌糠除了可以制备成发酵饲料之外,也可以用于堆肥发酵,用以制备成微生物菌肥^[15]。从不同时间各样品的菌群组成变化来看,发酵初期0 d和6 d,样品的菌群组成最为丰富,表明所取菌糠样品中自带的细菌菌群较为丰富,种类较多,还存在着许多不能确定归属的菌株。而所添加的枯草芽孢杆菌菌剂才开始生长,因此芽孢杆菌属所占比例相对较小。随着发酵时间的延长,添加的枯草芽孢杆菌菌剂大量生长,芽孢杆菌属所占比例迅速提升,在20 d时达到峰值,一直维持到发酵结束。20 d和30 d样品的微生物菌群变化不大,表明发酵20 d时微生物菌群基本稳定,样品中营养物质的转化将不再有明显变化,发酵基本趋于成熟,所得结果与C/N变化结果一致。此外,由于枯草芽孢杆菌生长优势的抑制作用、发酵温度的升高的杀菌作用和各菌株之间的拮抗作用的共同影响,原发酵菌糠中自带的细菌菌群种类逐渐减少、丰度降低,到发酵末期30 d样品时,样品中的菌群组成最少,仅剩芽孢杆菌属(*Bacillus*)、芽单胞菌属(*Blastomonas*)和放线菌属(*Actinomyces*)组成的抗逆性强、有芽孢或耐高温的菌属。

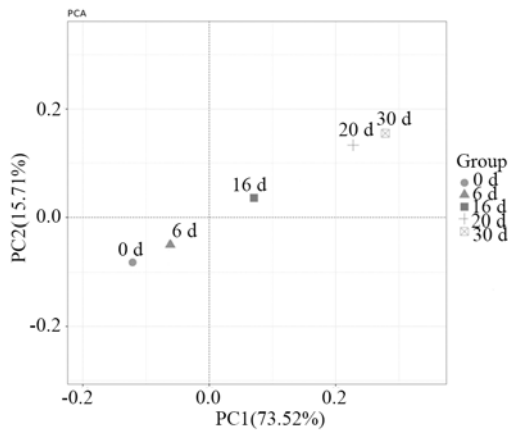


图8 各样品属水平上细菌群落的PCA分析

Figure 8 PCA analysis of bacterial community at genus level in each sample

2.3.3 各样品组间的相似性分析 通过R软件对各样品属水平的细菌群落组成结构进行主成分的PCA分析(图8),其第1主成分和第2主成分的贡献率分别为73.52%和15.71%,0 d、6 d样品及20 d、30 d的样品能较好的聚类在一起,16 d的样品与其他样品较为分散,表明随着发酵时间的变化,蛹虫

草菌糠发酵的菌群发生了一定的变化,各样品之间的细菌菌群存在着一定的差异,其变化的趋势与前述各样品门、属水平上细菌群落分布较为一致。

3 讨论与结论

温度变化是微生物固态发酵过程中的一个重要指示标志^[16],添加外援枯草芽孢杆菌菌剂的蛹虫草菌糠在堆积发酵过程中经历了初温期、升温期、高温期、保温期、降温期和稳定期的6个时期的变化。以此为依据本研究选定了发酵的第0、6、16、20和30天作为样品取样时间用以研究其发酵过程中的相关物化指标和细菌群落组成变化。研究表明,发酵过程的物化指标变化和温度变化密切相关。随着发酵时间的延长,接入的发酵菌株逐渐大量生长,发酵温度逐渐升高,部分水分挥发、损失,菌糠中营养物质被分解利用,pH、C/N和可溶性总糖含量比发生了改变。因此,在蛹虫草菌糠的整个发酵过程中,发酵温度、pH先升高后降低,含水量、C/N逐渐下降,可溶性总糖含量逐渐增加。发酵20 d时,发酵温度在峰值开始缓慢下降,水分、pH、C/N和可溶性总糖含量基本稳定,且C/N<20,各项指标变化表明此时发酵物料已成熟,发酵将基本趋于稳定。

通过高通量测序技术研究了蛹虫草菌糠发酵物料过程中的细菌菌群变化,结果表明取样样品中的细菌菌群存在着一定的差异。5个样品中分别得到了3万~4万多条的有效序列,共同拥有532个相同的OTUs,其OTUs和多样性指数均表现出先升高后降低的趋势。从门到属的水平上看,厚壁菌门、芽孢杆菌属(*Bacillus*)为主要的门类和核心属,在各样品中占比最大,丰度最高。随着发酵过程的进行,添加的外援枯草芽孢杆菌逐渐大量生长、成为了优势菌株,而发酵物料中原自带的菌株逐渐被抑制、消亡,样品的菌群组成及丰度逐渐减少。因此,发酵初始,样品中的菌群组成较为丰富,随后其种类和丰度逐渐降低。至发酵20 d时样品的菌群组成基本稳定,发酵物质的转化将趋于稳定,发酵基本成熟,所得结果与C/N变化结果一致。属水平上细菌群落的PCA主成分分析表明,0 d、6 d样品及20 d、30 d的样品聚为一类、16 d样品再聚为另一类,其变化趋势与门、属水平上的细菌群落组成分析一致。因此,综合发酵过程中物化指标变化和细菌群落的变化,蛹虫草菌糠发酵第20天为发酵成熟期,发酵样品趋于成熟、稳定。

此外,蛹虫草菌糠堆积发酵样品中除了主要的

芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 外, 还发现了对纤维素、半纤维素和木质素等具有很强分解能力的拟杆菌属 (*Bacaeroides*)、假黄单胞菌属 (*Pseudoxanthomonas*)、梭菌属 (*Clostridium*)、纤维杆菌属 (*Fibrobacter*) 和微生物菌肥中常用的放线菌属 (*Actinomyces*)、产碱菌属 (*Alcaligenes*)、土壤杆菌属 (*Agrobacterium*) 和固氮菌属 (*Azotobacter*) 等, 此类菌属的发现对蛹虫草菌糠发酵饲料、微生物菌肥等产品的研制提供了基础依据, 可为蛹虫草菌糠资源的进一步开发利用、产业链的拓宽发展提供了更多的可能性^[17]。

参考文献:

- [1] 申苗, 常尚连. 工厂化栽培北虫草高产稳产技术[J]. 食用菌, 2017, 39(1): 42-44.
- [2] 高新成, 杨晓明. 蛹虫草人工代料栽培技术[J]. 现代农业科技, 2016(13): 114-115.
- [3] 范文丽, 李天来, 代洋, 等. 杏鲍菇、香菇、金针菇、蛹虫草、滑菇、平菇菌糠营养分析评价[J]. 沈阳农业大学学报, 2013, 44(5): 673-677.
- [4] 张颖, 曾艳, 张丽姣, 等. 不同食用菌菌糠多糖的组分分析与抗氧化活性评价[J]. 食品科学, 2015, 36(5): 18-23.
- [5] LUO M C, LIN B S, QIU F Y, et al. Process analysis of mobile fermentation of spent white hypsizygus marmoreus substrate with self-made mobile fermentation bag[J]. J Agr Sci Tech, 2016, 17(4): 829-832.
- [6] 罗茂春, 柯志君, 邱丰艳, 等. 白玉菇菌糠分析及其发酵饲料制备工艺优化[J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(9): 84-88.
- [7] 路昭亮, 柳李旺, 龚义勤, 等. 萝卜干物重和可溶性总糖含量的遗传分析[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32(3): 25-29.
- [8] 贺建华. 饲料分析与检测 [M]. 2 版. 中国农业大学出版社, 2011: 39-41.
- [9] SUN Y J, WANG T Y, PENG X W, et al. Bacterial community compositions in sediment polluted by perfluoroalkyl acids (PFAAs) using Illumina high-throughput sequencing[J]. Environ Sci Pollut R, 2016, 23(11): 10556-10565.
- [10] 王思同, 辛寒晓, 范学明, 等. 接种生物菌剂对菌糠堆肥过程中腐植酸变化的影响[J]. 腐植酸, 2017(2): 21-25.
- [11] 罗佳, 张苗, 严少华, 等. 木薯渣堆肥过程中相关指标的变化及细菌群落特征[J]. 江西农业学报, 2017, 29(2): 58-62.
- [12] 魏炳栋, 陈群, 于秀芳, 等. 乳酸菌发酵豆粕、菜籽粕和棉籽粕过程中总糖和还原糖含量变化的研究[J]. 吉林畜牧兽医, 2010, 31(2): 47-49.
- [13] 赵帅, 周娜, 赵振勇, 等. 基于高通量测序分析盐角草根内生细菌多样性及动态规律[J]. 微生物学报, 2016, 56(6): 1000-1008.
- [14] 刘长莉, 李娜, 王宝鑫, 等. 添加菌剂制作堆肥的肥效及菌群多样性分析[J]. 中国农学通报, 2015, 31(8): 145-153.
- [15] 张毅民, 万先凯. 微生物菌群在生物有机肥制备中研究进展[J]. 化学工业与工程, 2003, 20(6): 522-526.
- [16] 刘建峰, 龚永华, 刘华梅, 等. 固态发酵生产豆粕多肽饲料的温度分段调控研究[J]. 饲料工业, 2012, 33(8): 30-33.
- [17] 王薇, 张晓松, 孟春玲, 等. 食用菌菌糠再利用探析[J]. 现代农业科技, 2017(3): 174-174.