

浒苔生物有机肥的制备及其对樱桃萝卜品质影响的研究

李银平,王进,于源,王鹏*

(中国海洋大学食品科学与工程学院,山东青岛 266003)

摘要:从腐烂的浒苔中筛选出2株细菌和1株真菌,经过基因测序鉴定为:蜡状芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和米根霉。将这3株菌与米曲霉复配成EM-L菌剂,并将该菌剂应用于浒苔(*Enteromorpha prolifera*)发酵。结果表明,该菌剂发酵浒苔具有升温迅速、温度高、周期短、组织降解彻底、无明显臭味的特点。发酵后的物料符合国家有机肥相关标准,可以作为肥料原料使用。将发酵物料和有机辅料通过配比研制的浒苔生物有机肥成分丰富,除含有作物所需的氮、磷、钾等大量元素外,还具有浒苔活性多糖和藻朊酸等小分子有机物及钙、镁、碘、锌等微量元素。以樱桃萝卜(*Cherry Radish*)为研究对象,施用4t/hm²的浒苔生物有机肥相对于对照有机肥能明显增加樱桃萝卜的重量、直径、还原糖含量和叶绿素含量,具有提高樱桃萝卜的产量和品质的作用。另外,还可以减少无机肥的施用量,改善土壤微生物环境,提高土壤有机成分含量,充分利用废弃资源,达到减少对环境的目的。

关键词:浒苔,发酵,樱桃萝卜,品质

Study on the production of *Enteromorpha prolifera* bio-organic fertilizer and its effect on the quality of Cherry Radish

LI Yin-ping, WANG Jin, YU Yuan, WANG Peng*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Two strains of bacteria and one strain of fungus were isolated from decayed *Enteromorpha prolifera*. Based on the gene sequence the microorganisms were *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, and *Saccharomyces cerevisiae*, respectively. The complex microbial inoculants named as EM-D (including *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and one strain of *Aspergillus oryzae*) was applied on the experiment of *Enteromorpha prolifera* fermentation. The results showed the fermentation process possesses characteristics of warming rapidly, high temperature, short period, completely degradation of the tissue and indistinctive odor. The fermentation production meets the relevant standards of the national organic fertilizer and could be used as fertilizer directly. Green algae bio-organic fertilizer which was produced by the fermentation production and organic materials was rich in N, P, K. The fertilizer was also composed of active polysaccharides, amino acid and the microelement of I, Mg, Mn, Ti. Compared to the control group, the fertilizer amount of 4t/hm² could significantly increase the weight, diameter, reduce sugar content and chlorophyll content of Cherry Radish. At the same time, the application of green algae biological fertilizer could reduce of chemical fertilizer usage, improve soil microbial environment, and increase of soil organic component content.

Key words: *Enteromorpha prolifera*; fermentation; Cherry Radish; quality

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)24-0120-05

浒苔(*Enteromorpha prolifera*)分类学上属绿藻门(Chlorophyta),石莼目(Ulvales),石莼科(Ulvaceae),浒苔属(*Enteromorpha*)^[1]。由于近年来海水营养成分发生变化,浒苔泛滥,影响海洋生态环境,国家每年投入大量的人力财力来处理这种“海洋垃圾”。当今,

浒苔的防治与应急处理已经成为海洋国家亟待解决的难题,同时浒苔的无害化、高值化利用成为当今研究的热点。

浒苔含有作物所需的丰富营养物质和多种活性物质,其中蛋白含量为9%~14%,脂肪1.04%,灰分32%~36%^[2-3]。另外,还含有浒苔活性多糖、藻朊酸和脂肪酸等小分子有机物及钙、镁、碘、锌等微量元素^[4]。浒苔已经在农业、饲料、食品、医药得到研究和应用。浒苔的营养成分丰富,能够将其降解作为肥料应用到农业中,即解决了“海洋垃圾”,又为现代农业增加了一种高效有机类肥料。如何才能将浒苔降解,菌种的

收稿日期: 2013-04-09 * 通讯联系人

作者简介: 李银平(1987-),女,硕士研究生,主要从事微生物应用方面的研究。

基金项目: 国家海洋局公益性专项(201105028-4); 国家海洋局开放基金(MBSMAT-2011-05)。

选择是关键因素。目前广泛研究的发酵肥料菌属有：放线菌、固氮菌、芽孢杆菌、酵母菌、光合细菌、霉菌等。降解的底物一般为纤维素、蛋白质、碳水化合物、矿物质复合物等。例如，颜霞等^[9]从堆腐过程中的双孢菇培养基中分离出了高温降解纤维素的放线菌；刘红艳等^[9]从土壤中分离筛选出强解磷细菌和强解钾细菌；牛四坤等^[7]从鱼池塘泥中筛选出了可高效降解水体中蛋白质的菌株；赵妍嫣等^[8]从土壤中筛选出多个降解淀粉的菌株。从以上研究可知，要想获得良好的发酵效果，筛选出具有较强降解能力的目的菌株尤为重要。本文从腐烂浒苔中筛选出三株降解菌，为进一步研究浒苔发酵并应用于农业肥料奠定了基础。

近年来，过量无机肥料的施入，导致土壤肥力大幅度下降，有机质降低，微生物菌群数量降低等一系列问题^[9]。为改善土壤结构，绿色肥料的概念渐渐深入到农业之中，并越来越受到国家的重视。新兴的海藻肥料是继化肥、秸秆粪便生物肥、有机肥之后的第四代肥料^[10]。国内对于海藻肥料的研究还处在未成熟阶段，市场上海藻肥品种较少。本文利用自主筛选的混合微生物菌剂，将浒苔降解成易于作物吸收的小分子物质，并配合有机辅料配制成一种营养元素多样，有效成分含量丰富的浒苔生物有机肥。本文在浒苔发酵及其对作物品质方面的研究，为海藻肥料的广泛使用提供科学的依据和参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

初筛培养基 孟加拉红和牛肉膏蛋白胨固体培养基；**复筛培养基** 新鲜浒苔5g，酵母膏1g，磷酸氢二钾2g，硫酸镁0.5g，氯化钙0.1g，氯化钠10g，水1000mL，pH7.0；**腐烂浒苔** 山东青岛栈桥附近收集；**新鲜浒苔** 中国海洋大学生物工程开发有限公司提供；**黄腐酸钾、硅藻土、腐植酸、膨润土、酵母发酵液干燥粉等辅料、樱桃萝卜种及供试土地** 青岛海梦圆有机农场提供，经测定其土壤农化成分含量为：总氮0.21%，总磷0.18%，总钾0.30%，有机质2.4%，pH7.1。

DNP-9052型电热恒温培养箱 上海精宏实验设备有限公司；**LDZX-40B I型立式蒸汽灭菌锅** 上海申安医疗器械厂；**2720ThermalCycler型PCR扩增仪** Eppendorf Inc；**DYY-2C型核酸电泳仪** 北京市六一仪器厂；**Tanon-4200型紫外凝胶成像仪** 上海天能科技有限公司；**Adventuer电子精密天平** 奥克斯国际贸易公司；**电子游标卡尺** 台湾宝工实业有限公司；**722型可见分光光度计** 上海精密科学仪器有限公司；**HH.S21-4电热恒温水浴锅** 江苏省金坛市宏华仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵菌种的筛选和鉴定

1.2.1.1 发酵菌种的初筛 将收集的腐烂浒苔用无菌水进行梯度稀释至 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} ，并涂布于初筛培养基上，30℃恒温倒置培养。挑选出在平板上生长快，菌落大的单菌落。将分离的单菌落进行划线分离，进一步镜检并保存初筛菌株。

1.2.1.2 发酵菌种的复筛 将初筛后的菌种接种至复筛培养基中，30℃培养。观察浒苔的断裂情况。并对菌种进行连续传代培养，将具有较高活性的菌种进行斜面保存。

1.2.1.3 堆肥实验 以浒苔为原料，通过添加尿素调节发酵用物料的C/N为30:1，利用复筛后的菌剂与本实验室已有的米曲霉对物料共同进行复合发酵。以未接复合菌群堆肥作为对照。定时观察两组的组织状态。

1.2.1.4 菌种鉴定 **a.16S rRNA基因分析**：DNA的提取方法依据Li等^[11]的方法扩增，使用的16S通用引物为27F：5'-AGAGTTGATCATGGGTCAG-3'；1492R：5'-AAGGAGGTGATCCAACGCA-3'；**b.18S rRNA基因分析**：DNA的提取方法依据张亮^[12]的方法扩增，使用的18S通用引物为ITS-1：5'-CGTAACAAGGTTTCGTAGG-3'；ITS-4：5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。测序由上海生工公司完成，序列比对在NCBI数据库中进行。

1.2.2 浒苔生物有机肥的制备 以浒苔为原料，通过添加尿素调节发酵用物料的C/N为30:1，利用EM-L菌剂对物料进行发酵。首先将配好的待发酵物转入发酵池，再将预先培养的EM-L菌剂倒入池中，接种量为发酵物料总量的3%~5%，物料要充分混匀。发酵过程中，定期翻堆取样检测，翻堆要迅速、充分，整个周期为14d。将发酵完全的物料和有机辅料按一定比例充分混匀，即浒苔生物有机肥。同时将浒苔生物有机肥中的各辅料按照相同比例配制成对照组肥料，以下统称为对照有机肥。

1.2.3 浒苔生物有机肥对樱桃萝卜的品质影响 本实验设不施肥料的空白组为处理组1，施4t/hm²对照有机肥的对照组为处理组2，施浒苔生物有机肥1t/hm²（低施肥量实验组）、4t/hm²（中施肥量实验组）、7t/hm²（高施肥量实验组）三个实验组分别为处理组3、4、5。每个处理组设置3个平行，每个平行450棵樱桃萝卜。5月3号种植，6月5号采收，整个生长期为33d通过对樱桃萝卜的单棵重、单颗直径、还原糖含量和叶绿素含量等指标进行检测，并以此判断浒苔生物有机肥的肥效。

1.2.4 指标测定方法 樱桃萝卜的单棵重用电子天平直接称量，单颗直径用游标卡尺直接测量，还原糖含量采用3,5-二硝基水杨酸法^[13]，叶绿素含量采用分光光度比色法^[14]，腐熟过程中的物料C/N按照国家NY 525-2002有机肥料标准中所述方法进行测定。

1.3 数据处理及分析

实验数据采用Excel 2003软件进行数据的图表处理和单因素方差分析。并用Excel 2003软件进行SSR多重比较检验法^[15]检验处理组间的差异程度，以 $p < 0.05$ 作为差异显著水平。

2 结果与分析

2.1 发酵菌种的筛选和鉴定

2.1.1 发酵菌种的筛选 在初筛过程中，共筛选出13株细菌和7株酵母菌。将初筛得到的菌株分别接种到复筛培养基中，大部分菌株由于对新鲜浒苔的降

解能力较差而被淘汰;经过反复复筛,最终获得3株降解能力较强且稳定的菌株。

2.1.2 发酵菌种的鉴定及命名 分别对细菌的16S rRNA和真菌的18S rRNA扩增后,将测序结果与NCBI数据库中的基因序列进行比对。比对结果表明本次筛选的3个菌株分别为:米根霉、枯草芽孢杆菌和蜡状芽孢杆菌。菌株比对结果如下表1所示。将这三个菌株同实验室已有的发酵菌株“米曲霉”共同命名为EM-L菌剂。

2.2 浒苔发酵指标测定

以EM-L菌剂发酵浒苔,在发酵过程中定期观察取样并测定发酵物料的温度、高度和C/N等指标,测定结果如图1所示。观察发酵后浒苔,其颜色发黑,组织腐烂,呈流体状。而无添加EM-L菌剂的对照组浒苔在发酵周期结束后,其原浒苔绿色变浅,组织基本无断裂,仍保持完整。浒苔在EM-L菌剂的作用下,在14d的发酵周期中,物料的温度变化明显,第2d即升到50℃以上,在第3d温度达到最高为65℃。之后温度缓慢下降,第8d温度达到40℃,并保持平稳。物料高度在整个发酵期逐渐下降,前3d下降较快,11d之后维持在19cm高度,并保持稳定。物料C/N值从30逐渐下降到16,后期保持稳定。

2.3 浒苔生物有机肥的成分测定

根据NY 525-2002有机肥料标准对浒苔进行成分含量测定,浒苔成分含量(以湿基计)为:总氮0.62%,全磷0.04%,全钾0.68%,有机质10.12%。本实验研究的浒苔生物有机肥主要成分为浒苔、腐植酸、膨润土和酵母发酵液干燥粉等有机物料。根据国标NY 525-2002对浒苔生物有机肥成分含量测定,结果见表2。从以下各指标可以看出,本浒苔有机肥各指标均符合国家有机肥料标准,是严格按照该标准配制的一种新型海藻类生物有机肥。

2.4 浒苔生物有机肥对樱桃萝卜的生长影响

通过在樱桃萝卜生产中增施浒苔生物有机肥,并在采收时随机抽样,测定果实重量、直径和还原糖等。从表3中可以看出,随着浒苔生物有机肥施肥量的增加,重量和直径均呈现先上升后下降的趋势。中施肥量实验组在重量和直径两个指标中表现出最高水平,比对照组分别增加3.29%和3.81%。但两个处理组组间的重量和直径指标均无显著差异。低施肥量

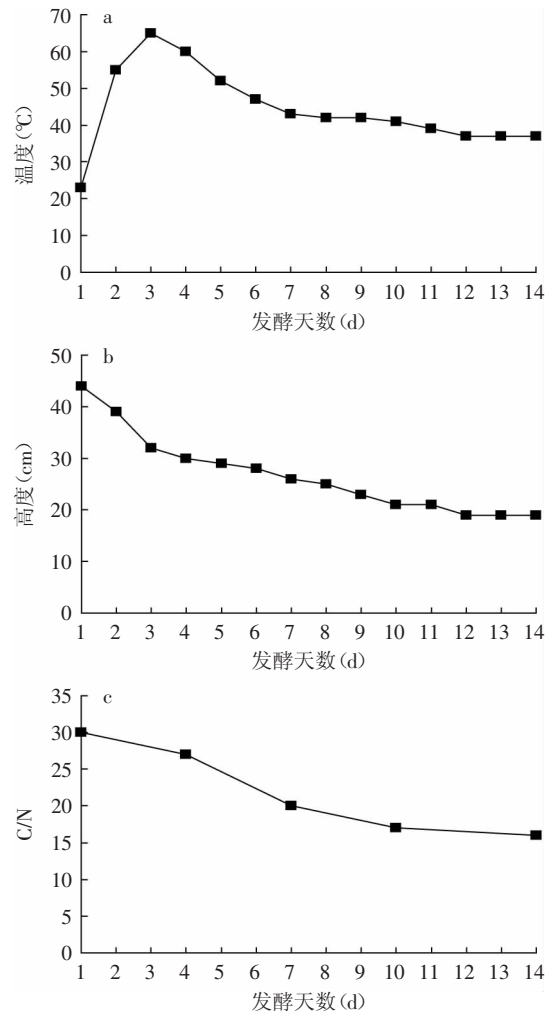


图1 浒苔发酵过程中各指标变化
Fig.1 The changes of each index in the the fermentation process of *Enteromorpha prolifera*

注:a:发酵物料温度的变化;b:料体高度的变化;c:发酵物料的C/N变化。

实验组对樱桃萝卜的还原糖含量影响最大,比对照组增加4.11%,中施肥量实验组(增加0.64%)次之。综合比较说明,4t/hm²为浒苔生物有机肥的最佳施肥量,对樱桃萝卜的重量及糖含量的促进作用显著,浒苔生物有机肥的施肥量达到7t/hm²之后对樱桃萝卜的生长有明显的抑制作用。对照有机肥对樱桃萝卜

表1 菌种鉴定结果

Table 1 The identification results of selected strains

筛选菌株名称	基因库比对描述	相似度
米根霉	Rhizopus oryzae strain SU-B3 18S ribosomal RNA gene	99%
枯草芽孢杆菌	Bacillus subtilis strain HB-6 16S ribosomal RNA gene	99%
蜡状芽孢杆菌	Bacillus cereus strain DS16 16S ribosomal RNA gene	99%

表2 浒苔生物有机肥成分含量

Table 2 The content of the component of *Enteromorpha prolifera* bio-organic fertilizer

项目	有机质(干基,%)	总养分(N+P ₂ O ₅ +K ₂ O)(干基,%)	水分(%)	酸碱度pH
浒苔生物有机肥	44.3	6.7	12.5	7.1
有机肥标准(NY525-2002)	≥30	≥4.0	≤20	5.5~8.0

表3 浒苔生物有机肥对樱桃萝卜单棵重量、单颗直径、还原糖含量的影响

Table 3 The effects of *Enteromorpha prolifera* bio-organic fertilizer on the weight, diameter and reducing sugar of Cherry Radish

处理组	重量(g)	增加量(%)	直径(mm)	增加量(%)	还原糖(mg/g)	增加量(%)
1	10.54±1.37 ^b	-11.73	21.93±3.88 ^b	-7.72	1.68±1.45 ^a	-2.33
2	11.94±0.97 ^a	--	24.60±3.16 ^a	--	1.72±2.10 ^a	--
3	12.23±2.55 ^a	2.35	24.92±4.80 ^a	1.28	1.79±1.85 ^a	4.11
4	10.34±2.39 ^a	3.29	25.54±3.16 ^a	3.81	1.73±1.04 ^a	0.64
5	10.81±1.31 ^b	-9.51	21.55±4.34 ^b	-12.43	1.68±0.74 ^a	-2.43

注:小写字母表示用SSR法($p < 0.05$)处理后得出的处理组间的显著水平。

的重量、糖含量的提高也有明显的效果,但与最佳施肥量的浒苔生物有机肥下的樱桃萝卜生长情况相比,各指标都较低。

樱桃萝卜成熟后,进行随机取样并对叶片叶绿素含量进行检测评定,空白组植株叶片局部有发黄现象,表现出缺肥症状;对照组植株叶片呈现出浅绿色,无发黄叶片;施用浒苔生物有机肥植株叶片深绿,无黄叶、烂叶。从图2的数据中也可以看出,浒苔生物有机肥对于樱桃萝卜的叶片叶绿素含量有明显的促进作用,而且随着肥施肥量的增加,叶绿素含量呈递增趋势。施用浒苔生物有机肥的实验组均高于对照组与空白组的叶绿素含量。

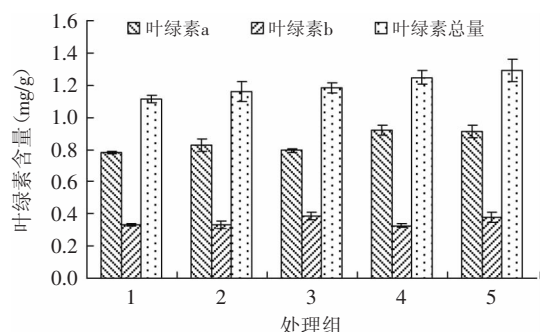


图2 浒苔生物有机肥对樱桃萝卜叶绿素含量的影响

Fig.2 The effect of *Enteromorpha prolifera* bio-organic fertilizer on chlorophyll content of Cherry Radish

3 讨论

3.1 发酵菌种的筛选和鉴定

经复配的EM-L菌剂是由多种真菌和细菌组成的微生物群系。对纤维素分解能力较强的菌株大多为真菌属^[16],其中屈二军^[17]、马光^[18]、管海华等^[19]均报道了米曲霉可以分泌纤维素酶。此外,米曲霉具有生长快、产孢子量大、不产毒素等特点^[16]。EM-L菌剂中的枯草芽孢杆菌^[20]可以分泌蛋白酶以分解浒苔原料中的蛋白质,从而生成利于作物吸收的小分子肽类化合物。根霉是霉菌中一种具有多酶系特征的霉菌,它除了能分泌淀粉酶外,还能分泌酸性蛋白酶,酒化酶及乳酸、琥珀酸等多种有机酸及乙醇等^[21]。蜡状芽孢杆菌可产生抗菌物质,抑制有害微生物的繁殖,降解土壤中的营养成分,改善生态环境,有耐高温、耐酸碱、耐温度变化等特点^[22]。综合以上各菌株的性质,各菌株之间具有良好的协同效应。在浒苔发酵过程中,在各微生物群系共同作用下能够达到对浒

苔的加速分解,将浒苔中的纤维素、蛋白质、碳水化合物等有机物彻底降解成作物所能吸收的小分子物质。

3.2 物料在发酵过程中的指标变化

对发酵终点的浒苔进行感官评定,其颜色已完全失去原有的浒苔绿色,变为深黑色;组织降解充分,呈半流体状,无明显臭味。物料在发酵的过程中,由于各种微生物的活动产热,使得料体温度升高,又由于本实验所用菌种由米曲霉、芽孢杆菌等多种属菌种组成,具有产多酶类、有机物种类降解全面和产热快的特点,所以物料温度在前期即可升到50℃以上。随着微生物的不断繁殖,温度随之升高,最高达到65℃。到了发酵后期,由于营养物质和外界环境的变化,导致微生物活动减弱,数量减少,进而物料温度下降直至达到稳定。另外,微生物对物料的作用,使得浒苔组织降解,交联度下降,从而表现出料体高度的下降。微生物在生长繁殖过程中,大量地利用物料中的碳源和氮源,并产生二氧化碳和氨气排出料体之外^[23]。微生物对碳源的需要量大于氮源,导致C/N值逐渐减小,由30降到16。根据刘更正^[24]、Marco Grigatti^[25]的研究,C/N是检验物料发酵程度的一个重要指标,堆肥的C/N值达到20以下就认为已发酵结束,可以直接使用。本实验研究的物料发酵后的C/N值为16,说明物料已经发酵完全,能够作为肥料原料使用。

3.3 浒苔生物有机肥对樱桃萝卜的生长影响

本实验研究的浒苔生物有机肥成分丰富,不仅含有浒苔所特有的浒苔多糖、藻朊酸和脂肪酸等小分子有机物质,并且其氮、磷、钾和有机质总量高于国家NY 525-2002有机肥料标准。此外,该肥料还具有活化生物体内多种转化酶和过氧化物酶,促进植物细胞分裂,刺激植物生长等多种生理活性^[26]。实验结果表明,樱桃萝卜在施用了浒苔生物有机肥之后,相对于对照有机肥,其果实的重量、直径、还原糖含量和叶片叶绿素含量都在不同程度上得到增加。樱桃萝卜的块茎膨大主要依靠氮源,浒苔生物有机肥氮源丰富,为其提供了大量的生长营养元素。叶绿素是植物进行光合作用的重要物质,也是衡量植物光合作用能力的重要指标之一^[27]。叶绿素有两部分组成,卟啉环和叶绿醇,卟啉环的结构中包含镁元素。此外,叶绿素的前体为锌卟啉,需要锌元素来合成^[28]。浒苔生物有机肥含有大量的镁、锌等矿质元素^[3,26],为叶绿素的合成提供了物质基础。从实验中得出,

中、低施肥量下,樱桃萝卜叶的叶绿素含量与浒苔生物有机肥的施肥量呈正相关。但在高施肥量下,樱桃萝卜的果实较小,说明过多浒苔生物有机肥的施用会抑制樱桃萝卜的生长。果实的还原糖含量是衡量其口感和品质的一个指标^[29],其含量越高,口感越好,品质也越高。当樱桃萝卜的浒苔生物有机肥的施用量为1、4t/hm²时,其还原糖含量高于空白组含量,对樱桃萝卜的品质有提高作用。

4 结论

经分离筛选得到的米根霉、枯草芽孢杆菌和蜡状芽孢杆菌菌与米曲霉复配得到EM-L菌剂。各菌株之间具有良好的协同作用,能够达到对浒苔的加速分解。以发酵浒苔作为主要原料制备得到的浒苔生物有机肥,其成分含量指标符合相应的国家标准。浒苔生物有机肥相对于对照有机肥对樱桃萝卜的重量和还原糖含量的增加作用明显。结果表明,浒苔生物有机肥的最佳施肥量为4t/hm²,该施肥量对樱桃萝卜在产量和品质上都有促进作用。

参考文献

- [1] 王晓坤,马家海,叶道才,等. 浒苔(*Enteromorpha prolifera*)生活史的初步研究[J]. 海洋通报,2007,6(5):112-116.
- [2] 陈大伦,黄晓春,杨文鸽,等. 浒苔营养成分分析[J]. 浙江海洋学院学报,2003,22(4):318-320.
- [3] M Aguilera-Morales. Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha spp.* as a potential food source[J]. Journal of Food Composition and Analysis,2005,18:79-88.
- [4] 汪家铭. 海藻肥生产应用及发展建议[J]. 化学工业,2010,2(12):14-18.
- [5] 颜霞,柳晓东,杨俊杰. 高温纤维素酶产生菌的筛选鉴定及其酶性质研究[J]. 太阳能学报,2011,32(6):787-791.
- [6] 刘红艳,张亚莲,常硕其,等. 茶园生物菌肥高效菌株的筛选[J]. 茶叶通讯,2006,33(4):13-15.
- [7] 牛四坤,李榆梅. 养殖水体有机污物蛋白质高效降解菌的筛选和分离[J]. 太原师范学院学报,2011,10(4):142-145.
- [8] 赵妍嫣,姜绍通,郑志,等. 淀粉基高吸水树脂降解菌的筛选及初步鉴定[J]. 微生物学通报,2004,31(6):83-86.
- [9] 张志群,王兰,赵延华,等. 生物有机复合肥的研制及应用[J]. 大连民族学院学报,2003,5(3):37-38.
- [10] 汪家铭. 海藻肥生产应用及发展建议[J]. 化学工业,2010,2(12):14-18.
- [11] Li HW, Medina F, Bradleigh Vinson S, et al. Isolation, characterization, and molecular identification of bacteria from the

- red imported fire ant(*Solenopsis invicta*) midgut[J]. Journal of Invertebrate Pathology,2005,89:203-209.
- [12] 张亮,池振明. 1株产纤维素酶海洋酵母菌的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. 中国海洋大学,2007,37(2):101-108.
- [13] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2006:97.
- [14] 杨敏文. 快速测定植物叶片叶绿素含量方法的探讨[J]. 光谱实验室,2002,19(4):478-487.
- [15] 王钦德,杨坚. 食品实验设计与统计分析[M]. 北京:中国农业大学出版社,2008:104-121.
- [16] Hart T D, De Lei FAAM, Kinsey G, et al. Strategies for the isolation of the cellulolytic fungi for composting of wheat straw[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology,2002,18:471-480.
- [17] 屈二军,王晓涛,李文建,等. 一株高产纤维素酶的米曲霉菌种的选育[J]. 中国酿造,2008,191(14):47-49.
- [18] 马光,郭继平. 米曲霉发酵玉米秸秆产纤维素酶饲料条件的优化[J]. 生物技术,2010,20(6):81-85.
- [19] 管海华,贾秉晟,王家芳,等. 一株产纤维素酶和植酸酶的米曲霉的诱变筛选和固体发酵[J]. 南京师大学报,2011,34(2):83-89.
- [20] 徐雅芃,李吕木,许发芝,等. 一株产碱性蛋白酶芽孢杆菌的筛选、鉴定及应用初探[J]. 激光生物学报,2011,20(6):830-837.
- [21] 张凤英,董开发,涂瑾. 根霉酒精发酵特性研究[J]. 食品科学,2002,23(8):158-159.
- [22] 黄丽彬,陈有容,齐凤兰. 蜡状芽孢杆菌在饲料中的应用[J]. 粮食与饲料工业,2011,36(9):32-33.
- [23] 刘益仁,刘光荣,李祖章,等. 微生物发酵菌剂对猪粪堆肥腐熟的影响[J]. 江西农业学报,2006,18(5):36-38.
- [24] 刘另更. 中国有机肥料[M]. 北京:中国农业出版社,1991:38-59.
- [25] Marco Grigatti, Luciano Cavani, Claudio Ciavatta. The evaluation of stability during the composting of different starting materials: Comparison of chemical and biological parameters[J]. Chemosphere,2011,83:41-48.
- [26] 陈玉玲. 腐植酸对植物生理活动的影响[J]. 植物学通报,2000,17(1):64-72.
- [27] 陈绍瑗,吕贞儿,董峰丽,等. 响应面分析法优化桑叶叶绿素提取工艺[J]. 浙江大学学报,2006,38(6):725-731.
- [28] OHKI K. Effect of zinc nutrition on photosynthesis and carbonic anhydrase activity in cotton[J]. Physiologia Plant arum,1976,38(4):300-304.
- [29] 杜新民. 氮锌肥配施对樱桃萝卜产量和品质的影响[J]. 农业与技术,2009,29(6):69-72.

权威·核心·领先·实用·全面