

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2024.04.007

生防菌哈茨木霉 TMN-1 最佳固体发酵条件探究

魏周玲¹, 朱洪江¹, 陆宁², 万军³, 丁伟¹, 李石力¹

1. 西南大学 植物保护学院, 重庆 400715;

2. 贵州省烟草科学研究院, 贵州 550081;

3. 贵州省烟草公司遵义市公司湄潭分公司, 贵州 遵义 564100

摘要: 哈茨木霉 TMN-1 对烟草青枯病有良好的防治效果, 为了能将哈茨木霉广泛应用于田间病害的防治, 需对其进行菌剂的制备. 因此, 本研究在试验室条件下, 探究土壤分离的生防菌哈茨木霉 TMN-1 菌株的固体发酵条件, 试验从发酵固体培养基、发酵温度、含水量、接种量及外接营养元素等因子出发, 探究不同条件对 TMN-1 菌株分生孢子产量的影响. 试验结果表明, 稻壳粉在木霉的发酵条件中效果最优, 可作为良好的木霉 TMN-1 菌株固体发酵培养基; TMN-1 菌株的最佳发酵条件为: 最佳接种量为 8%, 最佳含水量为 30%, 最佳发酵温度为 28 °C, 在此条件下, 培养一周, 木霉分生孢子产量可达 1×10^{10} cfu/g 左右. 同时, 外接淀粉作为碳源可以显著提高木霉 TMN-1 的分生孢子产量. 通过该研究可为木霉固体制剂的制备及木霉的商品化提供基础条件和理论依据.

关键词: 哈茨木霉; 固体发酵; 生物防治

中图分类号: S435.72

文献标志码: A

文章编号: 2097-1354(2024)04-0050-08

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Optimal Solid Fermentation Conditions of
Trichoderma harzianum TMN-1WEI Zhouling¹, ZHU Hongjiang¹, LU Ning²,
WAN Jun³, DING Wei¹, LI Shili¹

1. College of Plant Conservation, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Guizhou Academy of Tobacco Science, Guiyang 550081, China;

3. Guizhou Province Tobacco Company Zunyi Company Meitan Branch, Zunyi, Guizhou 564100, China

Abstract: *Trichoderma harzianum* TMN-1 has good control effect on tobacco bacterial wilt. In order to widely apply it to control the field disease, it is necessary to prepare its bactericidal a-

收稿日期: 2024-04-11

基金项目: 中国烟草总公司重点科技项目[110202101027(LS-02)]; 中央高校基本科研业务费项目(SWU-KR22049).

作者简介: 魏周玲, 硕士, 主要从事植物病害绿色防控技术研究.

通信作者: 李石力, 博士, 讲师.

gent. Therefore, this study mainly explored the solid fermentation conditions of *T. harzianum* TMN-1 strain, a biocontrol bacterium isolated from soil, under laboratory conditions. Based on the determination of fermentation solid medium, fermentation temperature, water content, inoculation amount, and external nutrient elements, the study explored the influence of different conditions on the conidial production of TMN-1 strain. The results showed that rice husk powder had the best effect among the fermentation conditions of *T. harzianum* and could be used as a good solid fermentation medium for *T. harzianum* TMN-1 strain. Meanwhile, the optimum fermentation conditions for *T. harzianum* TMN-1 strain were as follows: 8% of inoculation amount, 30% of water content, and 28 °C of fermentation temperature. Under this condition, the conidia yield of *T. harzianum* could reach 1×110 cfu/g for one week. At the same time, external starch as carbon source can significantly increase the conidium production of *T. harzianum* TMN-1. The research can provide basic conditions and theoretical basis for the preparation of *T. harzianum* solid bactericidal agent and the commercialization of *T. harzianum*.

Key words: *Trichoderma harzianum*; solid fermentation; biological control

在现代农业操作过程中,传统防治病害的方法主要是通过化学药剂来杀死农作物上的有害生物达到病害防治的目的,但化学农药的使用往往导致病害产生抗药性、杀死其他有益生物、破坏环境等问题^[1].生物防治作为植物保护绿色防控技术的核心组成部分,是我国有效控制化学农药用量、保障农业生产和生态环境安全、提高农产品质量、促进农业可持续发展的重要手段^[2].生防菌在生物防治中发挥着重要作用,维持着生物屏障,增强根际免疫,有效抵御病原菌侵染^[3-5].其中,木霉作为一种重要的生防菌,被报道是现在生物防治中普遍被认为具有良好生防作用的生防菌因子,其中哈茨木霉的生防价值潜力巨大,是木霉中研究较多的一类生防菌.哈茨木霉是木霉菌的一种,属半知菌亚门,丝孢纲,丛梗孢目,丛梗孢科,可寄生于18个属中的29种植物病原菌^[6-9],是一种最具有学术和应用价值的微生物资源之一,其良好的生防效果在实际农业生产中也得到了很好的应用和体现^[10-12].对哈茨木霉的研究国外开始较早,Zimand^[13]的研究发现,哈茨木霉对葡萄孢菌有明显的抑制作用.国内的研究者针对哈茨木霉的生防作用也进行大量的研究与应用,李琼芳等^[14]通过在药材上的研究试验发现,将哈茨木霉 T23 施用于田间,7.5 kg/hm²的 T23 田间防治效果达到 70% 以上,对比于多菌灵粉剂,中药材最多可增产 24.5%.姚彬等^[15]在探究番茄病害的生物防治过程中发现,哈茨木霉对番茄灰霉病、叶霉病、枯萎病及褐斑病都有明显的抑制作用.陈双臣等^[16]研究发现,哈茨木霉通过激活与光合相关酶活性及基因表达缓解了叶霉菌对番茄光合生理的抑制作用,哈茨木霉菌株 TH16 和 TH54 对番茄叶霉病的防控效果达到 69.4% 和 60.0%.哈茨木霉作为生防菌剂,还在植物的疫霉病、植物白绢病、马铃薯黑痣病、烟草黑胫病等病害上具有明显的防治作用^[17-22].近些年也出现了许多相关的物化产品,如美国的 T22 菌株和以色列的 T39 菌株都已经实现商业化^[23].本研究是在研究室分离得到的一株具有生防能力的哈茨木霉菌株 TMN-1 的基础上,已经明确其生防活性与潜在的生防价值,通过单因素法探究其固体发酵技术,以期得到可用于田间使用的固体木霉制剂,也以此为木霉的商品化提供基础试验材料及理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

哈茨木霉 TMN-1 菌株由西南大学植物保护学院天然产物农药研究室分离纯化鉴定并保存.

1.1.2 固体发酵培养基

PDA 培养基, 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂粉 20 g, 水 1 000 mL. 玉米粉、麦麸、稻壳粉均购置于市场.

1.2 方法

1.2.1 菌种孢子悬浮液的配置

将活化的木霉菌种接种在 PDA 培养基, 置于 28 ℃ 恒温培养箱培养 7 d, 待分生孢子成熟 (PDA 培养基上菌落呈浅绿色), 使用无菌水洗脱分生孢子 2~3 次, 每次加入 10 mL 无菌水, 用干净的毛刷轻轻刷下培养基表面的分生孢子, 收集洗脱液, 显微镜下通过计数板计数, 调整孢子悬浮液最终浓度为 1×10^6 cfu/mL, 备用.

1.2.2 发酵基质初始含水量的测定

称取 10 g 固体发酵基质置于干净的烧杯中, 烘箱 105 ℃ 烘干 12 h 至恒质量. 按照公式计算固体发酵基质的初始含水量.

固体基质含水量(%) = (烘干前基质质量 - 烘干后基质质量) / 烘干前基质质量 $\times 100\%$.

1.2.3 发酵产物木霉孢子浓度的测定

发酵完成后, 取固体发酵物 1g 加 9 mL 无菌水, 在磁力搅拌器上搅拌 5 min, 将孢子悬浮液稀释 100 倍, 采用细胞计数板检测发酵产物木霉分生孢子的浓度.

1.2.4 木霉固体发酵条件的探索

1) 固体发酵基质的测定: 准确称量玉米粉、麦麸、稻壳粉各 10 g, 以及将三者按 1 : 1 比例两两混合制成 10 g 固体发酵培养基, 分别加入广口玻璃瓶中, 灭菌. 设置初始接种条件: 含水量 50%, 接种量 10%, 发酵温度 28 ℃, 发酵周期为 7 d.

2) 最佳接种量的探究: 试验设计以下 6 个处理, 分别以 2%、4%、6%、8%、15%、20% 的接种量进行接种, 每个处理做 3 次重复.

3) 最佳含水量的确定: 试验设计以下 7 个处理, 分别以 10%、20%、30%、40%、50%、75%、100% 的含水量进行发酵, 其他条件均在上述试验最优条件下进行, 每个处理重复 3 次.

4) 最佳发酵温度的确定: 试验设计 4 个处理, 分别在 32 ℃、30 ℃、28 ℃、25 ℃ 的温度下进行发酵, 其他条件均在上述试验的最佳条件下进行.

5) 外接碳源对发酵产物的影响: 试验选取 3 种常见碳源, 分别为 1% 葡萄糖溶液、1% 麦芽糖溶液、1% 淀粉溶液作为外加碳源, 探究不同的外接碳源对发酵产物的影响. 每个处理 3 次重复, 其他条件均在上述试验的最佳试验条件下进行.

在发酵的过程中, 每 12 h 翻动发酵基质一次, 保证固体基质透气疏松.

1.3 数据分析

利用 Excel 2013 进行数据整理, 采用 SPSS16.0 统计软件在显著水平为 0.05 水平上进行差异分析, 并采用 Origin 9.0 绘图.

2 结果与分析

2.1 发酵基质含水量测定

由表 1 可以看出, 在玉米粉、麦麸、稻壳 3 种不同的发酵基质中, 含水量最高的是玉米粉, 为 14.2%, 其次是麦麸, 含水量为 9.3%, 稻壳粉含水量仅有 4.2%. 3 种发酵基质按 1 : 1 比例两两混合的基质中, 麦麸 + 玉米粉的含水量为 11.7%, 稻壳 + 玉米粉的含水量为 9.1%, 麦麸 + 稻

壳粉的含水量最低,仅为 6.9%. 在后续试验中基于以上结果进行相应的调整,以保障发酵基质含水量的稳定.

表 1 不同发酵基质含水量

编号	发酵基质	含水量/%
1	麦麸	9.3
2	玉米粉	14.2
3	稻壳粉	4.2
4	麦麸+玉米粉	11.7
5	麦麸+稻壳粉	6.9
6	玉米粉+稻壳粉	9.1

2.2 最佳固体发酵基质的确定

本试验主要选取了 6 种固体发酵培养基,分别是麦麸、玉米粉、稻壳粉,以及三者分别按 1:1 比例两两混合得到的混合物. 由表 2 可以看出,在 28 ℃ 恒温发酵 7 d 后,玉米粉处理的木霉分生孢子浓度最高,为 8.00×10^9 cfu/g; 其次是稻壳粉,孢子浓度为 6.86×10^9 cfu/g; 麦麸发酵效果较差,发酵 1 周后分生孢子浓度仅为 1.2×10^9 cfu/g. 三者两两混合发酵结果显示,玉米粉+稻壳粉可以达到最好的发酵效果,孢子浓度可达 7.51×10^9 cfu/g. 由此可以看出,3 种发酵材料中,玉米粉的发酵效果最好,但在工业化过程中,成本问题是工业化最为关键的问题之一,由表 2 可以看出,玉米粉的市场价格是稻壳粉的 5 倍,是麦麸的 3 倍. 产孢量仅为稻壳粉的 1.2 倍,是麦麸的 6.7 倍,综上,稻壳粉是最为理想的木霉发酵的固体基质,可作发酵培养基在工厂化条件下使用.

表 2 不同的发酵基质对产孢量的影响

编号	发酵基质	孢子浓度/(cfu · g ⁻¹)	材料单价/(元 · kg ⁻¹)
1	麦麸	1.20×10^9	1.00
2	玉米粉	8.00×10^9 *	3.00
3	稻壳粉	6.86×10^9	0.60
4	麦麸+玉米粉	2.58×10^9	2.00
5	麦麸+稻壳粉	5.96×10^9	0.80
6	玉米粉+稻壳粉	7.51×10^9 *	1.80

注:表中“*”代表在 $p<0.05$ 水平下存在显著性差异.

2.3 最佳接种量的确定

固体发酵的过程中,初始接种量不仅影响发酵产物的纯度,也影响发酵的时间长短. 若接种量过少,会增加发酵时间,造成能源及空间的浪费,若接种量过大不仅会增加基质污染的风险,还会使有限的资源均用于菌丝体的生长而不利于孢子的产生. 因此适宜的接种量可以节约发酵时间,还能增加产物的稳定性,对提高产品质量有重要的作用.

由图 1A 可看出,当发酵 1 周后,初始接种量为 2% 的产孢量最低,随着接种量的增加,产孢量逐渐增加,当初始接种量为 8% 时,产孢量达到最大;图 1B 可知,当初始接种量为 2% 时,发酵 1 周后木霉分生孢子浓度仅有 6.83×10^9 cfu/g; 随着接种量的增加,产物中孢子浓度逐渐

增多,在接种量为8%时,发酵产物中的木霉分生孢子含量达 9.19×10^9 cfu/g,当接种量大于8%时,孢子浓度逐渐降低.因此,在接种量为8%时,发酵1周的效果最佳,这与王永东等^[24]的研究相一致.

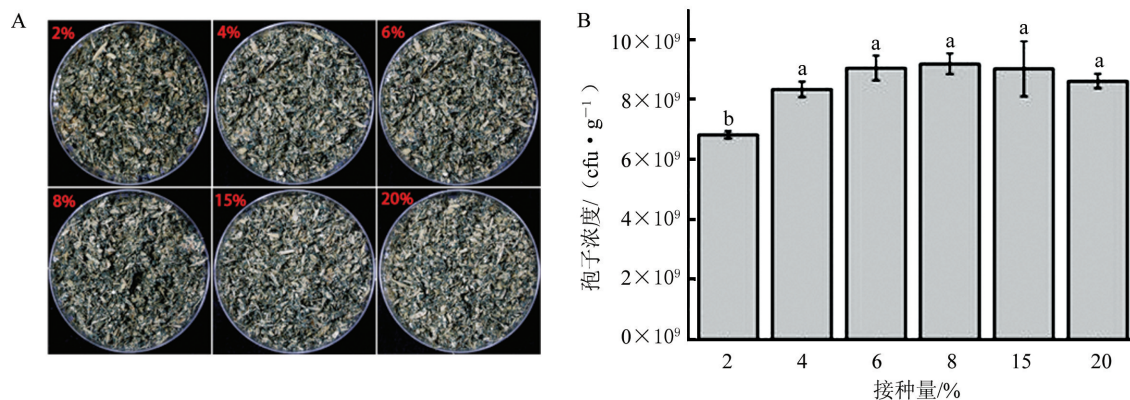


图1 不同接种量对孢子浓度的影响

2.4 最佳含水量的确定

固体发酵中的含水量直接影响木霉在培养基中的生长情况,是发酵产物最关键的一项指标之一.由图2A可看出,当基质含水量在10%时,发酵1周后,发酵基质中只有零星的木霉孢子产生,水分含量严重地影响了木霉的生长和产孢能力.由图2B可知,发酵基质含水量只有10%,产孢量最低,孢子浓度为 2.20×10^8 cfu/g,而当随着发酵基质含水量的上升,孢子产量显著上升,当基质含水量为30%时,孢子浓度可达 1.02×10^{10} cfu/g.当发酵基质含水量增加到40%以上时,木霉孢子的产量逐渐下降.因此,水分含量严重影响了木霉的产孢能力,由此研究可得基质含水量为30%时木霉固体发酵效果最佳.

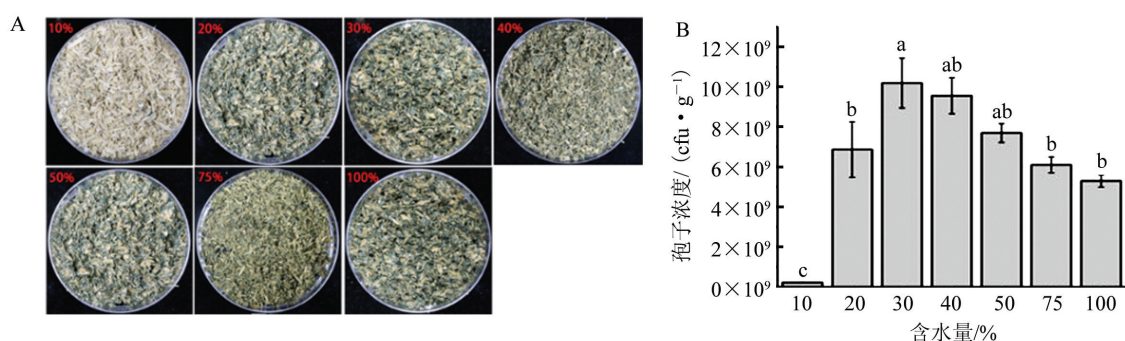


图2 不同含水量对孢子浓度量的影响

2.5 最佳发酵温度

为确定最佳发酵温度,分别设计在32℃、30℃、28℃、25℃4个温度梯度下进行木霉的固体发酵.由图3A结果可知,温度对木霉固体发酵产物的影响十分明显,木霉固体发酵的最佳温度是28℃,发酵7d后分生孢子浓度可达 9.19×10^9 cfu/g;图3B可以看出,虽然发酵温度越高可以促进木霉快速产孢(发酵到第3d),但却大大限制了木霉的产孢量,发酵7d时,32℃、

30 ℃ 的孢子浓度分别为 2.80×10^9 cfu/g 和 4.03×10^9 cfu/g; 同样发酵温度过低也不利于木霉菌丝的生长及分生孢子的形成, 会增大木霉的发酵周期, 25 ℃ 条件下发酵 7 d 时, 木霉孢子浓度仅为 2.42×10^9 cfu/g; 而当在 28 ℃ 条件下进行木霉的固体发酵时, 在 1~4 d 主要是菌丝生长, 第 4 天开始, 菌落开始出现白色絮状物及分生孢子束, 5~6 d 时, 白色逐渐变成绿色开始形成成熟的木霉孢子, 直至第 7 d, 菌落颜色不再变化, 白色菌丝消失, 此时分生孢子浓度可达 9.19×10^9 cfu/g. 因此可得出 28 ℃ 是进行哈茨木霉 TMN-1 菌株固体发酵的最佳温度, 适宜的发酵周期为 8 d, 在保证有足够的分生孢子产生的同时可以保证发酵时间最短.

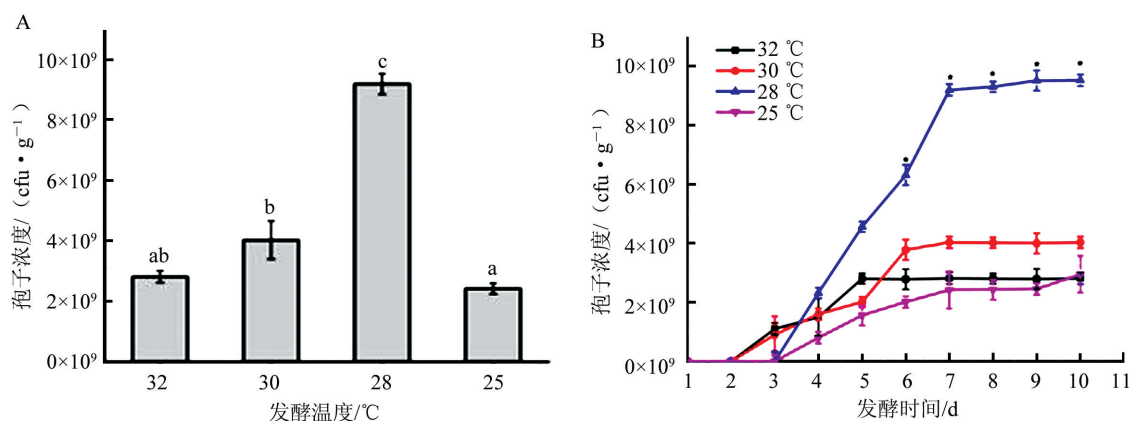


图3 不同温度对孢子浓度的影响

2.6 外接不同碳源对孢子浓度的影响

为探究外接不同碳源对产孢量的影响, 本研究选取 1% 葡萄糖溶液、1% 麦芽糖溶液、1% 淀粉溶液作为外加碳源. 由图 4 可知, 不同外接碳源对哈茨木霉产孢量的影响从大到小顺序依次为: 淀粉、麦芽糖、葡萄糖. 添加 1% 的葡萄糖、1% 的麦芽糖对木霉孢子的产生没有显著的促进作用, 而添加 1% 的淀粉溶液作为外接碳源时, 孢子浓度为 5.17×10^9 cfu/g, 表明在固体培养基中添加淀粉作为碳源可以显著提高木霉发酵产物中分生孢子的含量. 因此在实际的发酵生产过程中, 固体发酵基质中添加一定剂量的淀粉, 可以有效增加发酵产物中木霉孢子的浓度.

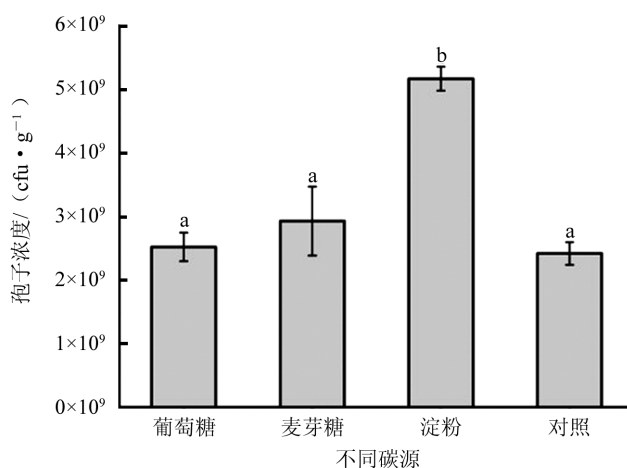


图4 不同外接碳源对孢子浓度的影响

3 结论与讨论

稻壳粉作为在大米生产过程中产生的副产品,具有来源丰富,价格低廉等优点,另外,稻壳生产过程中含有残留的淀粉,还有纤维素和半纤维素,在木霉的发酵过程中足够作为碳源提供给微生物生长繁殖所需,并且,稻壳本身还含有丰富的微量元素如钙、镁、铁等金属元素均是微生物生长繁殖所必须的^[25-26].微生物在大量的生长繁殖的过程中对营养和水分的要求都很巨大,木霉是全世界分布最为广泛的微生物之一,这与其自生强大的环境适应能力及繁殖能力密不可分,木霉在快速生长的过程中会消耗大量的营养物质^[24],因此本试验在探索最适合木霉固体发酵基质的基础上还探究了不同外接营养物质对发酵产物的影响.水分是影响微生物生长的关键因素,在发酵的过程中需要保证有足够的水分供微生物使用,但固体发酵基质水分含量也不宜太高,这会导致培养基透气性变差,影响微生物的生长和繁殖^[27].同时,为了节省发酵时间和优化产物,进一步又探索了最适宜发酵温度及最佳的接种量.结果表明,温度过高在一定程度上可以促进菌丝的发育,促进木霉提前产孢,但会大大地限制木霉产生分生孢子的能力.同样,温度过低也不利于木霉的发酵,主要在于低温减缓了木霉菌丝的生长速度,延缓了产孢时间,不利于发酵的进行.综上所述,哈茨木霉 TMN-1 菌株在 28 ℃ 的条件下进行固体发酵,同时保持发酵基质初始含水量在 30%~50%,接种量在 8% 的条件下可以达到木霉的最佳发酵效果,发酵周期为 7~8 d 即可完成木霉的固体发酵,发酵产物中木霉分生孢子浓度可达 1×10^{10} cfu/g 左右.

本研究采用了固体发酵技术生产的哈茨木霉菌剂,利于使用及运输,固体发酵也是生防菌大量应用的必经之路.固体发酵有利于微生物菌剂的长时间保存,发酵基质不仅是一个载体,更重要的是在微生物使用到土壤之前为其提供了良好的生长和繁殖空间.本研究通过探究生防菌哈茨木霉 TMN-1 的最佳固体发酵条件,可为木霉固体制剂的制备及木霉的商品化提供基础条件和理论依据.

参考文献:

- [1] 丛韞喆. 生防菌混合发酵液对植物土传病害防治、土壤性质微生物区系和采后果实品质的影响 [D]. 济南: 山东大学, 2020.
- [2] 张古忍, 张文庆, 周强, 胡建, 徐卫华. 生物防治造福人类 [J]. 中国科学: 生命科学, 2024, 69.
- [3] 丁伟, 刘晓姣. 植物医学的新概念: 生物屏障 [J]. 植物医生, 2019, 32(1): 1-6.
- [4] 丁伟, 李石力. 植物医学的新概念: 土壤免疫 [J]. 植物医生, 2019, 32(2): 1-7.
- [5] 韦中, 沈宗专, 杨天杰, 王孝芳, 李荣, 徐阳春, 沈其荣 [J]. 土壤学报, 2021, 58(4): 814-823.
- [6] WOO S L, HERMOSA R, LORITO M, et al. Trichoderma: a Multipurpose, Plant-Beneficial Microorganism for Eco-Sustainable Agriculture [J]. Nature Reviews Microbiology, 2023, 21: 312-326.
- [7] TYSKIEWICZ R, NOWAK A, OZIMEK E, et al. Trichoderma: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth [J]. Int J Mol Sci. 2022, 23(4): 2329.
- [8] BISSETT J, GAMS W, JAKLITSCH W, et al. Accepted Trichoderma Names in the Year 2015 [J]. IMA Fungus, 2015, 6(2): 263-295.
- [9] 阮盈盈, 刘峰. 木霉菌生物防治作用机制与应用研究进展 [J]. 浙江农业科学, 2020, 61(11): 2290-2294.
- [10] UMADEVI P, ANANDARAJ M, SRIVASTAV V, et al. Trichoderma Harzianum MTCC 5179 Impacts the

- Population and Functional Dynamics of Microbial Community in the Rhizosphere of Black Pepper (*Piper nigrum* L.) [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2018, 49(3): 463-470.
- [11] ZHANG F L, GE H L, ZHANG F, et al. Biocontrol Potential of *Trichoderma Harzianum* Isolate T-Aloe A-against *Sclerotinia Sclerotiorum* in Soybean [J]. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 2016, 100: 64-74.
- [12] 陆洪省, 张雪, 高宇婷, 等. 哈茨木霉 SKD-ZX-1 的鉴定、发酵及其生防效果 [J]. *生物技术通报*, 2019, 35(11): 132-140.
- [13] ZIMAND G. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* Pathogenicity [J]. *Phytopathology*, 1996, 86(11): 1255.
- [14] 李琼芳, 曾华兰, 叶鹏盛, 等. 哈茨木霉(*Trichoerma harzianum*)T23 生防菌筛选及防治中药材根腐病的研究 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2007, 29(11): 119-122.
- [15] 姚彬, 王傲雪, 李景富. 哈茨木霉对 4 种番茄病原真菌抑制作用的研究 [J]. *东北农业大学学报*, 2009, 40(5): 26-31.
- [16] 陈双臣, 姬德刚, 李聪, 等. 哈茨木霉诱导番茄叶片光合生理变化的研究 [J]. *园艺学报*, 2014, 41(3): 489-497.
- [17] CHAVERRI P, BRANCO-ROCHA F, JAKLITSCH W, et al. Systematics of the *Trichoderma Harzianum* Species Complex and the re-Identification of Commercial Biocontrol Strains [J]. *Mycologia*, 2015, 107(3): 558-590.
- [18] HARMAN G E. Myths and Dogmas of Biocontrol Changes in Perceptions Derived from Research on *TrichodermaHarzinum* T-22 [J]. *Plant Disease*, 2000, 84(4): 377-393.
- [19] 郭成瑾, 沈瑞清, 张丽荣, 等. 哈茨木霉协同秸秆对马铃薯黑痣病及根际土壤微生态的影响 [J]. *核农学报*, 2020, 34(7): 1447-1455.
- [20] 危潇, 黎妍妍, 姚经武, 等. 哈茨木霉 WF2 菌株鉴定及对烟草黑胫病的防效[J]. *中南农业科技*. 2023, 44(11) 12-15.
- [21] 李小杰, 李成军, 姚晨斌, 等. 拮抗烟草疫霉菌的木霉菌株筛选鉴定及防病促生作用研究 [J]. *中国烟草科学*, 2020, 41(3): 65-70.
- [22] 侯洁, 李琴, 李秀婷, 等. 产木聚糖酶霉菌发酵条件优化及酶学性质研究 [J]. *食品工业*, 2016, 37(10): 130-134.
- [23] AHMED A S, SÁNCHEZ C P, CANDELA M E. Evaluation of Induction of Systemic Resistance in Pepper Plants (*Capsicum Annuum*) to *Phytophthora Capsici* Using *Trichoderma Harzianum* and Its Relation with Capsidiol Accumulation [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2000, 106(9): 817-824.
- [24] 王永东, 蒋立科, 岳永德, 等. 生防菌株哈茨木霉 H-13 固体发酵条件的研究 [J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2006, 32(6): 645-650.
- [25] 刘华, 李崇高, 黄建初. 响应面法对绿色木霉产纤维素酶固态发酵条件优化[J]. *安徽农业大学学报*, 2017, 44(6):6.
- [26] 杨丹丹, 王建平, 马娜娜, 等. 绿色木霉固体发酵产孢子的条件优化 [J]. *中国农学通报*, 2020, 36(12): 111-119.
- [27] 贺芹. 固态发酵基质水分特征及供水方式的研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2013.