

养猪场发酵床垫料及下层土壤中酶活性变化特性研究

李买军¹, 马 晗¹, 郭海宁¹, 尹微琴¹, 王小治^{1*}, 封 克¹, 顾洪如²

(1.扬州大学环境科学与工程学院, 江苏 扬州 225127; 2.江苏省农业科学院畜牧研究所, 南京 210014)

摘 要:发酵床养猪作为近年我国引进的一种新兴养殖模式,实现了养猪零排放,缓解了规模养猪场的环境污染问题。从2012年11月17日到2013年5月24日,在江苏省泗阳县天蓬猪场的发酵床养猪栏内连续采集0~20 cm、20~40 cm垫料层及40~60 cm、60~80 cm的土壤层样品,测定其过氧化氢酶活性、纤维素酶活性及蛋白酶活性,研究酶活性的变化以及对深层水土环境的影响。结果表明,在0~40 cm垫料的垂直深度,随着深度的加大,酶活性显著下降($P<0.05$);随着垫料使用时间的延长,垫料中过氧化氢酶和纤维素酶活性有增大的趋势,而蛋白酶活性有降低的趋势,垫料下层土壤中酶活性变化不显著。

关键词:发酵床养猪;垫料;过氧化氢酶活性;纤维素酶活性;蛋白酶活性

中图分类号:X713 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2014)04-0777-06 **doi:**10.11654/jaes.2014.04.023

Enzyme Activities in Bedding and Soil Layers of Pig Bio-beds

LI Mai-jun¹, MA Han¹, GUO Hai-ning¹, YIN Wei-qin¹, WANG Xiao-zhi^{1*}, FENG Ke¹, GU Hong-ru²

(1.College of Environmental Science and Engineering, Yangzhou University, Jiangsu 225127, China; 2.Institute of Animal Science, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Fermentation bed, namely bio-bed, is a newly developed pig-raising system, which realizes zero-pollutant discharge from pig-raising. An experiment was conducted in Tianpeng Bio-bed Pig Raising Farms, Siyang, Jiangsu Province, from November 17, 2012 to May 24, 2013. Catalase, cellulase and protease activities were determined in bedding(0~20 cm, 20~40 cm) and soil(40~60 cm, 60~80 cm) layers. The results showed that all enzyme activities decreased significantly($P<0.05$) with depth; whereas catalase and cellulase activities significantly increased but protease activity tended to decrease with time in bedding layer(0~40 cm)($P<0.05$). No apparent changes of enzyme activities were observed in soil layer.

Keywords: Bio-bed pig raising; bedding material; catalase activity; cellulase activity; protease activity

随着经济社会的快速发展,我国的畜牧养殖业,特别是规模化、集约化的商品养殖发展迅猛,由养殖业带来的环境污染压力也日益增大。据估计,2007年全国畜禽粪便总量达到26亿t,预计到2020年我国畜禽粪便产生量将达到41亿t^[1]。畜禽粪便的大量排放对周边环境造成了严重影响,特别是粪便中大量病原微生物、寄生虫卵已经严重危害人类健康^[2]。发酵床养殖是一种基于控制畜禽粪便排放与污染的养殖方

式^[3-4],可以减少粪尿对环境的污染。在猪发酵床模式中,猪的一切生命活动都是在垫料层上进行的,因此对垫料进行科学的养护来保持发酵的活性尤为重要^[5]。酶活性是反映环境中微生物数量及活动强度变化的重要参数,猪粪在垫料中降解的一切生物化学过程也都是在酶的参与下进行的,因此垫料中酶活性的大小不但可以反映出垫料中降解猪粪的能力^[6],还能表征垫料的腐熟程度。Philippe等^[7]的研究也表明,畜禽粪便被有机垫料中的微生物迅速降解、消化,减少了猪舍内NH₃、N₂O、CO₂和CH₄等气体的排放,猪舍环境得到改善。此外,垫料中有着较强吸水性能的稻壳和木屑也能够很好地防止粪污的下渗,起到保护深层水土环境的作用,可见垫料在养殖过程中起着很大的作用,所以说“养床”是发酵床技术中最为关键的一环。

收稿日期:2013-08-26

基金项目:江苏省农业技术科技自主创新资金项目(CX(12)1001-6);
江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(CXLX13-910);
扬州市环保科研课题(YHK1204)

作者简介:李买军(1990—),男,内蒙古鄂尔多斯人,硕士研究生,研究方向为有机固废资源化利用。E-mail:hahali_happy@126.com

***通信作者:**王小治 E-mail:xzwang@yzu.edu.cn

迄今为止,对于发酵床养殖技术的研究多集中在动物生长性能、畜舍环境等方面^[8],而缺乏对发酵床垫料的相关研究。国内仅见盛清凯等^[9]、陆扬等^[10]对垫料中氮素营养以及朱洪等^[6]对垫料中接种剂的应用效果的研究,过氧化氢酶、纤维素酶以及蛋白酶参与了垫料中的许多生化反应,与碳素、氮素代谢密切相关,然而对于酶类在垫料中是否具有累积效应以及对水土环境的影响却鲜有研究。发酵床养殖模式根据垫料铺设的位置可分为地上式和地下式两种模式,这主要是由地下水位决定的。在江苏地区,得到大力推广的仍是以圈栏土地面垫料床模式(地下式养殖模式)为主,这种模式的猪舍造价相对较低,猪场土地利用率高,有利于发酵床的冬季保暖等,因此该模式在苏南、苏中和苏北都有很好的应用示范。本文以该种养殖模式作为研究对象,对育肥猪的发酵床垫料进行研究,探讨垫料及下层土壤中酶活性的变化规律,为发酵床床体的保养维护、废弃垫料的资源化利用,以及发酵床养殖技术的综合环境效应评价提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集及试验处理

样品采集地点为江苏省泗阳县天蓬养猪场,该猪场发酵床猪舍每栋4栏,每栏面积约50 m²,垫料厚度为40 cm,一般每栏养15头猪,垫料由木屑和稻壳按1:1的比例配制而成,未接种菌剂。样品采集时间分别为2012年11月17日(I)、2013年1月19日(II)、2013年3月3日(III)、2013年4月14日(IV)以及2013年5月24日(V),共采集五批样品。在一个养殖栏内采集多点混合样,包括0~20、20~40 cm的垫料样品和40~60、60~80 cm的土壤样品,共采集3个养殖栏内的样品,为3个重复。样品风干、磨细、过20目筛储存备用。

1.2 测定方法

过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定^[11],纤维素酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定,蛋白酶活性采用络氨酸比色法测定^[12]。

1.3 统计分析

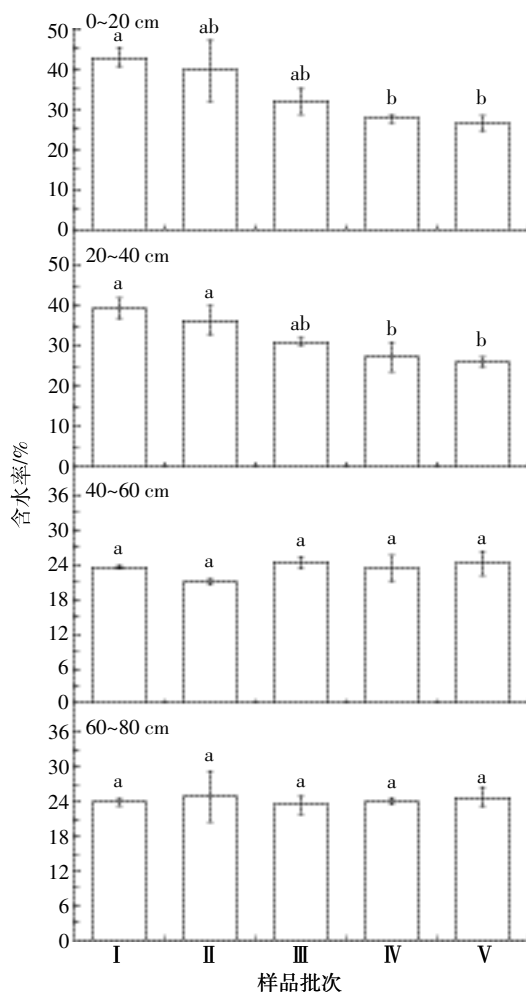
采用 T 检验方法,数据分析和统计分析分别采用Excel和SPSS 18.0软件,用Origin 8.5绘图。

2 结果与分析

2.1 含水率变化

由图1可知,随着采样时间的推移,不同深度层

次垫料的含水率均呈现持续下降的趋势。在0~20 cm垫料层,含水率从第I批次时的42.77%降低到了第V批次时的26.21%;在20~40 cm垫料层,含水率由39.25%降低到25.90%;并且在这两个深度层,第I批次和第V批次间的差异性显著($P<0.05$)。在40~60 cm和60~80 cm土层中,含水率分别在20.93%~24.39%和23.44%~24.94%之间波动,且各批次间不存在显著性差异。



各批次间不同小写字母表示达0.05显著水平。下同

图1 垫料及下层土壤中含水率的变化

Figure 1 Changes of water content in bedding and soil layers of pig bio-beds

2.2 过氧化氢酶活性

过氧化氢酶活性以1 g干样所分解的H₂O₂毫克数计,分解H₂O₂越多说明过氧化氢酶活性越强。由图2可知,随着时间的推移,不同层次的垫料和土壤中过氧化氢酶活性均表现出增加的趋势。第I批样中0~20 cm和20~40 cm的垫料层过氧化氢酶活性分别为3.49、3.00 mg·g⁻¹,到第V批样品时,过氧化氢酶活性

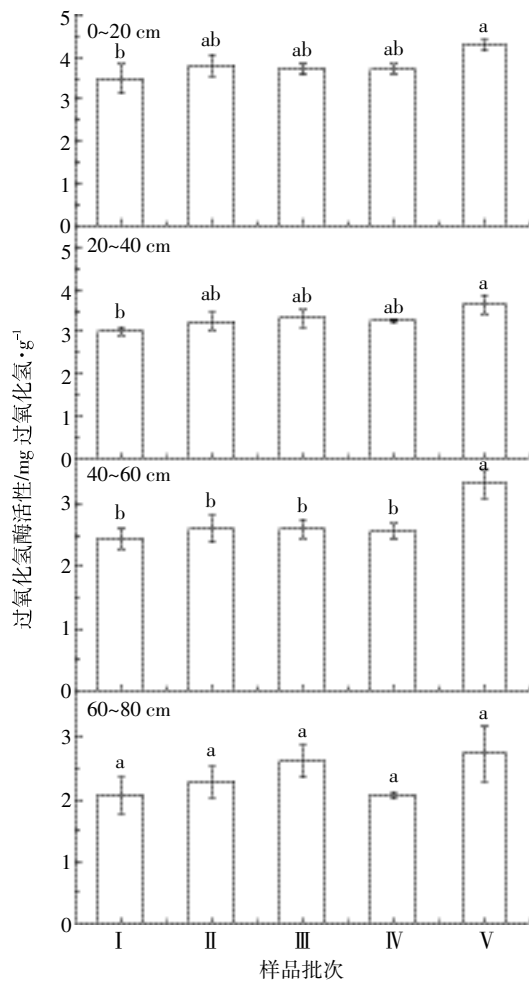


图2 垫料及下层土壤中过氧化氢酶活性的变化

Figure 2 Changes of catalase activity in bedding and soil layers of pig bio-beds

分别达到了 4.28 、 $3.64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 分别增加了 22.55% 、 21.18% ($P < 0.05$)。第 V 批样中 $40 \sim 60 \text{ cm}$ 土层过氧化氢酶活性为 $3.34 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 显著高于第 I 批的 $2.46 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 增幅达 35.93% 。在 $60 \sim 80 \text{ cm}$ 土层中, 不同时期的过氧化氢酶活性均无显著性差异。

2.3 纤维素酶活性

纤维素酶活性以 1 g 干样所生成的葡萄糖毫克数计(培养 72 h), 生成葡萄糖越多说明纤维素酶活性越强。由图 3 可知, 在 $0 \sim 20 \text{ cm}$ 垫料层中, 第 I 批次样品中的纤维素酶活性最大, 达到 $10.89 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 与第 II 批次的样品在 $P < 0.05$ 水平下差异显著, 后三批样品的纤维素酶活性虽呈现上升的趋势, 但不存在显著性差异。在 $20 \sim 40 \text{ cm}$ 垫料层, 纤维素酶活性在 $5.09 \sim 7.70 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间波动, 后三批样品随着时间的推移酶活性有增大的趋势。在 $40 \sim 60 \text{ cm}$ 的土层中, 随着时间的推移, 纤维素酶活性逐渐增大, 从 $0.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加

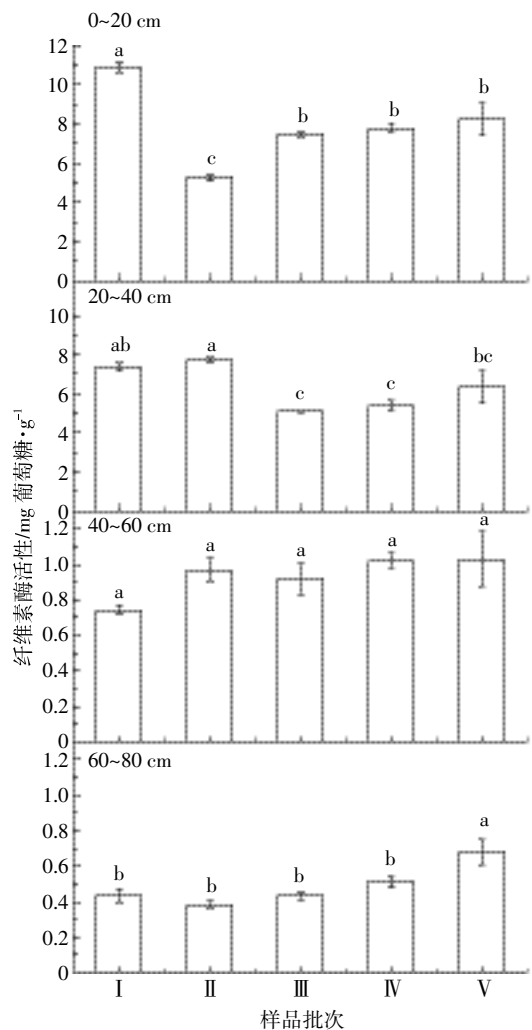


图3 垫料及下层土壤中纤维素酶活性的变化

Figure 3 Changes of cellulase activity in bedding and soil layers of pig bio-beds

到 $1.03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 增幅达 38.53% , 但差异不显著。在 $60 \sim 80 \text{ cm}$ 的深层土壤中, 酶活性有一个先相对平稳, 后明显增加的过程。

2.4 蛋白酶活性

蛋白酶活性以 1 g 干样水解所产生的络氨酸毫克数计, 水解生成的络氨酸越多, 其蛋白酶活性越强。如图 4 所示, 在 $0 \sim 20 \text{ cm}$ 和 $20 \sim 40 \text{ cm}$ 垫料层, 前三批次样品的蛋白酶活性变化幅度小, IV、V 两批次则存在明显的下降, 其中 $0 \sim 20 \text{ cm}$ 垫料层后两批与前三批差异性显著 ($P < 0.05$), 而 $20 \sim 40 \text{ cm}$ 垫料层差异不显著。在 $40 \sim 60 \text{ cm}$ 和 $60 \sim 80 \text{ cm}$ 的土层, 随着时间的推移, 蛋白酶活性有增加的趋势, 分别从最初的 1.25 、 $0.99 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 2.86 、 $2.27 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 增幅分别达到了 128.8% 和 129.3% , 在后四批之间差异不显著。

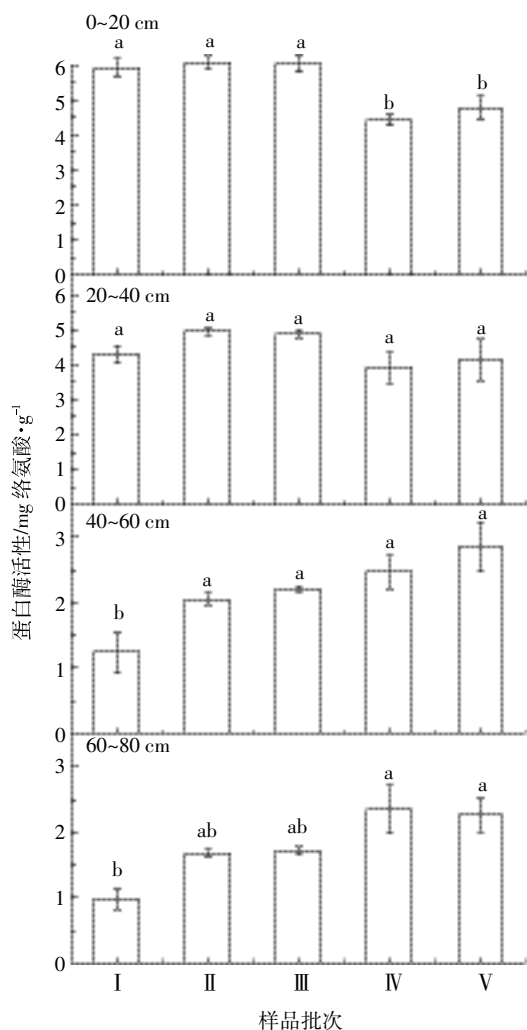


图 4 垫料及下层土壤中蛋白酶活性的变化

Figure 4 Changes of protease activity in bedding and soil layers of pig bio-beds

2.5 不同深度酶活性的变化

对同一深度的 5 批样品的酶活性进行求平均值、显著性分析,得到结果如表 1 所示,过氧化氢酶活性、纤维素酶活性、蛋白酶活性在 0~40 cm 垫料层中都随着深度的增加而显著降低($P<0.05$),其中纤维素酶活性下降的幅度最大,蛋白酶活性次之,过氧化氢酶活性下降幅度最小。而在 40~80 cm 土层中虽然活性下降,但是差异不显著。

3 讨论

发酵床垫料含水率的多少及水分的变化情况,对垫料及粪便好氧发酵过程中相关的物理及生物学性质会产生影响^[13]。合理的水分含量不仅可以保持发酵的温度,还能保证发酵的连续性,有利于垫料腐熟均匀。采样时段内垫料中含水率呈现下降的趋势,与垫

表 1 不同深度下酶活性的大小

Table 1 Enzyme activities in different depths of pig bio-beds

深度 Depth/ cm	过氧化氢酶活性 Catalase activity/ mg·g ⁻¹	纤维素酶活性 Cellulase activity/ mg·g ⁻¹	蛋白酶活性 Protease activity/ mg·g ⁻¹
0~20	3.80±0.11a	7.94±0.50a	5.46±0.21a
20~40	3.29±0.08b	6.38±0.32b	4.44±0.18b
40~60	2.72±0.11c	0.94±0.04c	2.17±0.17c
60~80	2.36±0.13d	0.49±0.03c	1.80±0.16c

注:同列不同小写字母表示达到 0.05 显著水平。

Note: Means in a column followed by different small letters are significantly difference at 0.05 level.

料中水分的蒸发有关,含水率降低了 15%左右,比一般的好氧堆肥发酵降低的幅度要小。这是因为木屑具有良好的保水能力,此外垫料中不断有猪尿液排入得以补充水分的缺失也是含水率降低较小的原因。由此可以推断,在实际生产中,适时补充适量的水分并及时对垫料进行翻挖能够维持垫料正常发酵的需要,但不能因补水过多造成垫料板结而形成局部厌氧环境,使得发酵终止甚至是“死床”的发生。

在发酵床系统中,一切复杂的生化反应过程都是在生物酶催化作用下发生的,研究生物酶活性有助于深入地了解猪粪在有机垫料中降解、有机物质转化、氮素代谢的过程和机理^[14]。

过氧化氢酶属于氧化还原酶类,是具有生物活性的蛋白质。谷洁等^[15]研究认为,过氧化氢酶与生物氧化反应密切相关,其活性大小可以反映堆肥中有机质转化的强度及微生物数量。在发酵床垫料中,随着时间的推移,过氧化氢酶活性有增大的趋势($P<0.05$),表明随着猪的生长及排泄的粪尿量不断增加,垫料中分解粪尿的微生物活性加强,粪尿中有机质分解加快,过氧化氢酶活性也相应呈现上升趋势。另外,温度因素可能也是酶活性改变的一个重要因素,从 2013 年 1 月 19 日到 5 月 24 日,酶活性的上升与这段时间温度的回升有关。刘魁英等^[16]的研究也认为在 10~50 ℃范围内过氧化氢酶活性随温度升高而线性增加。在 40~80 cm 的垫料下层土壤中,过氧化氢酶活性有略微增大的趋势,但差异不显著,表明微生物的活动区域并没有明显向深层土壤迁移,在构建发酵床猪舍时采取一定的防渗措施可进一步避免对下层土壤的影响。

纤维素酶是胞外水解酶,与碳素代谢密切相关,可降解纤维素为葡萄糖,纤维素酶活性的变化可以反映环境中碳素物质的降解情况。在发酵床养猪垫料中,纤维素酶始终保持较高的活性,直接参与了垫料

中纤维素、半纤维素、木质素等的分解,这与朴哲等^[17]的研究一致。在第Ⅱ批0~20 cm垫料样品中,纤维素酶活性出现下降可能是由于没有对垫料进行翻堆从而导致垫料通气性能下降^[18],为了延长垫料的使用寿命并维持较高的酶活性,应定期对垫料进行翻挖。从第Ⅲ批次开始,纤维素酶活性有增大的趋势,表明此时发酵床垫料中的纤维素、有机物质的分解速率加快,微生物活动加强。在40~80 cm的垫料下层土壤中,纤维素酶活性有增大的趋势,但差异不显著,这和过氧化氢酶活性情况一致,表明在深层土壤中酶活性基本保持稳定,不存在明显的变化。

蛋白酶是水解酶类,主要参与含氮化合物的分解和蛋白质及其他含氮有机物的转化,是参与环境氮循环的最重要酶类^[19]。在发酵床垫料中,前三批垫料中蛋白酶活性明显高于后两批,表明在前三批采样的时间段猪排泄的粪尿内含氮化合物的分解速度明显快于后两批。之所以会下降是由于垫料的长时间使用,加上猪的长期踩踏,导致垫料层被压的紧实结块,通气透气性能下降,微生物活动能力减弱,蛋白酶活性相应地降低。其他两种酶活性不降反增,可能的原因是过氧化氢酶和纤维素酶活性受温度及有机质含量的影响大,而受翻挖的影响相对较小。在40~80 cm的垫料下层土壤中,蛋白酶活性随着时间的推移整体有变大的趋势,但差异性不显著,这和其他两种酶活性基本一致。由此可以认为,发酵床垫料中活动旺盛的微生物在分解猪粪尿的同时对垫料下层的土壤影响很小,是一种环境友好型生态养殖方式。

在发酵床养殖模式中,垫料中的优势微生物菌种和酶活性密切相连,能够分泌过氧化氢酶、蛋白酶等酶类来促进粪尿的分解^[20]。因此,对垫料中的优势菌群进行筛选分类,能加深对微生物菌群与酶活性以及垫料的发酵腐熟之间关系的认识,进一步深化对垫料中物料转化的机理研究。

4 结论

本试验研究表明,在0~40 cm垫料层中,随着深度的加大,酶活性都有不断降低的趋势。在发酵床垫料中,过氧化氢酶活性和纤维素酶活性随着垫料使用时间的延长而显著增加,在垫料下层土壤中酶活性略微上升。对蛋白酶活性而言,使用时间短的垫料酶活性明显高于使用时间长的垫料,这对我们定期推翻垫料以提高酶活来加快粪尿的分解以及垫料的科学管理利用提供了依据。

参考文献:

- [1] 孙振钧,孙永明.我国农业废弃物资源化与农村生物质能源利用的现状与发展[J].中国农业科技导报,2006,8(1):6-13.
SUN Zhen-jun, SUN Yong-ming. Situation and development of agricultural residues as energy resource utilization in rural areas in China[J]. *Review of China Agricultural Science and Technology*, 2006, 8(1):6-13.
- [2] 徐伟朴,陈同斌,刘俊良,等.规模化畜禽养殖对环境的污染及防治策略[J].环境科学,2004,25(增刊):105-108.
XU Wei-pu, CHEN Tong-bin, LIU Jun-liang, et al. Environmental pollution, comprehensive prevention and control tactics of the scale and intensify poultry farming [J]. *Environmental Science*, 2004, 25(Suppl): 105-108.
- [3] 张霞,杨杰,李健,等.猪发酵床不同原料垫料重金属元素累积特性研究[J].农业环境科学学报,2013,32(1):166-171.
ZHANG Xia, YANG Jie, LI Jian, et al. Accumulated characteristics of heavy metals in different pig bio-bed materials[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(1):166-171.
- [4] Tiquia S M, Tom N F Y, Hodgkiss I J. Changes in chemical properties during composting of spent pig litter at different moisture contents[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1998, 67(1):79-89.
- [5] 李娟.发酵床不同垫料筛选及其堆肥化效应的研究[D].泰安:山东农业大学,2012:76.
LI Juan. Study on the selection of different litter ratio in deep-litter system and its effects on aging litter composting[D]. Tai'an:Shandong Agricultural University, 2012:76.
- [6] 朱洪,常志州,王世梅,等.基于畜禽废弃物管理的发酵床技术研究Ⅱ.接种剂的应用效果研究[J].江苏农业科学,2007(2):228-232.
ZHU Hong, CHANG Zhi-zhou, WANG Shi-mei, et al. Study on deep litter system for management of livestock manure: Ⅱ. Study on inoculants application effect [J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2007(2):228-232.
- [7] Philippe F X, Laitat M, Canart B, et al. Comparison of ammonia and greenhouse gas emissions during the fattening of pigs, kept either on fully slatted floor or on deep litter[J]. *Livestock Science*, 2007, 111:144-152.
- [8] 段淇斌,姬永莲,赵冬青,等.生物发酵床与暖棚式圈舍对育肥猪育肥效果的对比试验[J].草原与草坪,2009(5):35-37.
DUAN Qi-bin, JI Yong-lian, ZHAO Dong-qing, et al. Effects of biological ferment bed and warm pen on the pig fattening[J]. *Grassland and Turf*, 2009(5):35-37.
- [9] 盛清凯,武英,赵红波,等.发酵床养殖垫料组分的变化规律[J].西南农业学报,2010,23(5):1703-1705.
SHENG Qing-kai, WU Ying, ZHAO Hong-bo, et al. Research on variation of compositions in deep-litter systems [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Science*, 2010, 23(5):1703-1705.
- [10] 陆扬,吴淑杭,周德平,等.发酵床养猪垫料的养分转化与植物毒性研究[J].农业环境科学学报,2011,30(7):1409-1412.
LU Yang, WU Shu-hang, ZHOU De-ping, et al. Nutrition transformation and phytotoxicity of pig litters under Pig-on-Litter (POL) system [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(7):1409-1412.

- [11] 杨兰芳, 曾巧, 李海波, 等. 紫外分光光度法测定土壤过氧化氢酶活性[J]. 土壤通报, 2011, 42(1): 207-210.
YANG Lan-fang, ZENG Qiao, LI Hai-bo, et al. Measurement of catalase activity in soil by ultraviolet spectrophotometry[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2011, 42(1): 207-210.
- [12] 郑洪元, 张德生. 土壤蛋白酶活性的测定及其性质[J]. 土壤通报, 1981, 12(3): 32-34.
ZHENG Hong-yuan, ZHANG De-sheng. Measurement and character of protease activity in soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1981, 12(3): 32-34.
- [13] 罗维, 陈同斌. 湿度对堆肥理化性质的影响[J]. 生态学报, 2004(11): 2656-2663.
LUO Wei, CHEN Tong-bin. Effects of moisture content of compost on its physical and chemical properties[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004(11): 2656-2663.
- [14] 朱洪. 基于畜禽废弃物管理的发酵床技术研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007: 103.
ZHU Hong. Study on deep litter system for management of livestock manure[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2007: 103.
- [15] 谷洁, 李生秀, 秦清军, 等. 氧化还原类酶活性在农业废弃物静态高温堆腐过程中变化的研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(2): 138-141.
GU Jie, LI Sheng-xiu, QIN Qing-jun, et al. Changes of oxidization and reduction enzymes of agricultural waste materials during composting at high temperature and static state[J]. *Transactions of the CSAE*, 2006, 22(2): 138-141.
- [16] 刘魁英, 赵宗芸. 温度、压力、底物浓度和光照强度对过氧化氢酶动力学性质的影响[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1991, 5(3): 24-30.
LIU Kui-ying, ZHAO Zong-yun. Effects of temperature, pressure, substrate condition and light intensity on the dynamic properties of the catalase[J]. *Journal of Hebei Agricultural Teachers Collage*, 1991, 5(3): 24-30.
- [17] 朴哲, 崔宗均, 苏宝林. 高温堆肥的生物化学变化特征及植物抑制物质的降解规律[J]. 农业环境保护, 2001, 20(4): 206-209.
PIAO Zhe, CUI Zong-jun, SU Bao-lin. Characterization of biochemistry and degradation of plant-inhibited materials during high-temperature composting[J]. *Agro-environmental Protection*, 2001, 20(4): 206-209.
- [18] 谭小琴, 邓良伟, 伍钧, 等. 猪场废水堆肥化处理过程中微生物及酶活性的变化[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(1): 244-248.
TAN Xiao-qin, DENG Liang-wei, WU Jun, et al. Variations of the amount of microbe and the activity of decomposing enzyme during composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(1): 244-248.
- [19] 沈其荣, 王瑞宝, 王岩, 等. 堆肥制作中的生物化学变化特征[J]. 南京农业大学学报, 1997(2): 55-61.
SHEN Qi-rong, WANG Rui-bao, WANG Yan, et al. Biochemical characteristic of composting[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1997(2): 55-61.
- [20] 张庆宁, 胡明, 朱荣生, 等. 生态养猪模式中发酵床优势细菌的微生物学性质及其应用研究[J]. 山东农业科学, 2009(4): 99-105.
ZHANG Qing-ning, HU Ming, ZHU Rong-sheng, et al. Microbial properties and application of superior bacteria in Deep-litter Ecosystem for piggery[J]. *Shandong Agricultural Science*, 2009(4): 99-105.