

耐高温解无机磷菌的筛选及初步鉴定

杨天学^{1,2}, 唐忠涛³, 席北斗², 魏自民¹, 李鸣晓¹, 姜永海², 何小松¹, 苏 婧²

(1.东北农业大学生命科学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2.中国环境科学研究院城市环境系统工程研究室, 北京 100012; 3 江苏省泰州市房总置业有限公司, 江苏 泰州 225300)

摘 要:堆肥过程中接种分解或转化能力较强的微生物,可以加速堆肥的腐熟和改善产品品质。利用无机磷选择培养基,从添加磷矿粉的高温阶段堆肥样品中,分离筛选出 6 株菌落和透明圈较大的高温无机磷降解菌,经耐热性实验,结果其中的 2 株(No.C、No.D)温度适应范围较广,在 25~55 ℃之间均可生长。对这 2 株菌进行无机磷培养基摇瓶培养实验,测定了其高温下的解磷能力。结果表明,所筛选出的无机磷降解菌,在 50 ℃高温培养下,发酵液中的可溶性磷含量分别于第 14、16 d 达到最大值,为 263.8 和 242.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,对磷矿粉的最大降解率分别为 32.35%和 29.78%。通过形态学观察、生理生化指标鉴定,初步确定分离到的这 2 株具有较高活性的高温无机磷降解菌分别为软化芽孢杆菌属(*Bacillus.Macerans*)和巨大芽孢杆菌属(*Bacillus.Megaterium*)。

关键词:高温堆肥;无机磷;降解;分离;鉴定

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)02-0393-05

Screen and Preliminary Appraisal Degeneration Microorgams of Thermostable and Inorganic Phosphorus

YANG Tian-xue^{1,2}, TANG Zhong-tao³, XI Bei-dou², WEI Zi-min¹, LI Ming-xiao¹, JIANG Yong-hai², HE Xiao-song¹, SU Jing²

(1.College of Life Science, Northeast Agricultural University, Haerbin 150030, China; 2.Laboratory of Urban Environmental system Engineering, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 3.The Total Housing Properties Limited Company of Taizhou, Jiangsu Province, Taizhou 225300, China)

Abstract: To inoculate microorganisms which can decompose or transform in composting process can accelerate the decay of compost and improve the quality of composting product. Six microorganisms those could decompose inorganic phosphorus were separated from high temperature stage composting samples, which had bigger colonies and transparent circle in selective culture media of inorganic phosphorite powder. And thermally stable experiments indicated that 2 of those 6 microorganisms, which numbered C and D, had broad temperature adaptation scope and could live in the temperature from 25~55 ℃. Cultivation experiments under inorganic phosphorus medium were carried out to test the capacities of decomposing phosphorus of the two organisms under high temperature, which indicated that under high temperature of 50 ℃, dissolved phosphorus in fermentation fluid reached maximum value of 263.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 242.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ after 14 days and 16 days respectively. The maximum decomposing rates of phosphorite powder of the two microorganisms were 32.35% and 29.78%. Through morphological observation and appraisal of physiological and bio-chemical index, these two microorganisms were *Bacillus. Macerans* and *Bacillus.Megaterium* respectively.

Keywords: high-temperature compost; inorganic phosphorus; degeneration; separation; appraisal

土壤供磷水平的高低是影响植物生长的关键因素之一,大多数耕地土壤中磷素的 95%与 Fe、Ca 和 Al 等结合成无效磷^[1],植物难以直接吸收利用,导致

全国有 74%的耕地土壤缺磷^[2]。为了提高作物产量,每年向农田中施入了大量磷肥(P_2O_5),不仅导致了土壤中肥料比例严重失调、土壤板结及恶化,同时也加剧了对水体的面源污染强度。目前,我国农用磷肥主要由磷矿粉经加工而成,需要大量硫酸,生产成本较高,环境危害较大;磷矿粉直接施用于土壤时,肥效又受许多因素限制^[3]。如何在我国磷资源有限的情况下研究和总结一套能在农业生产中应用的生物学途径,以维持土壤的磷素供应水平,保证农业稳产高产,是广大科研工作者普遍关心的课题^[4]。

收稿日期:2008-04-18

基金项目:国家重点基础研究发展规划(973)项目(2005CB724203);哈尔滨学科后备带头人基金项目(2005AFXXJ043);国家科技支撑计划课题项目(2006BAC06B04);农业科技成果转化资金项目(2006GB24420465,2007GB24420459,2008GB24420470);国家自然科学基金(50878201)

作者简介:杨天学(1983—),男,安徽安庆人,硕士。E-mail:yt13@126.com

通讯作者:魏自民 E-mail:weizm691120@163.com

自 Ackett^[5]发现土壤微生物的解磷作用开始,人们对解磷微生物已有近百年的研究历史,研究者们运用解磷微生物及有机弱酸等手段对难溶性磷的转化开展了大量研究^[6-11]。虽然近年来的堆肥试验表明,在堆肥过程中产生的有机酸类物质^[12],对难溶性磷具有较强的溶解能力^[13-16],但由于低分子有机酸类物质主要产生在堆肥的中前期,堆肥腐熟后期,有机酸的含量极少,同时,堆肥产品中有机酸含量过高对植物的生长发育具有毒害作用,因此,为提高堆肥中难溶性无机磷的转化效率,应将堆肥中解磷的重点放在微生物对磷素的转化上^[17]。迄今为止,国内外对常温解无机磷微生物和有机磷降解菌的研究报道较多^[18-22],但有关高温解无机磷菌分离筛选的相关研究国内外报道较少。利用高温解无机磷菌,接种于添加有难溶性磷矿粉的高温堆肥中,通过高温堆肥过程对难溶性磷素形态的转变,不仅增加堆肥产品中可利用磷含量,同时堆肥产品施入土壤后,对提高土壤磷素利用率、降低磷素的面源污染具有重要的实际意义。基于此,本研究利用无机磷选择培养基从添加磷矿粉的高温堆肥样品中分离筛选高温解无机磷菌,通过耐热性试验进行复筛,获得耐高温且温度适应范围广的无机磷降解菌株,并进行初步鉴定,为其在实际堆肥中的应用与推广奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 筛选样品

添加磷矿粉垃圾堆肥高温阶段的样品,取自中国科学院城市环境系统工程研究室堆肥实验室。

1.1.2 培养基的制备

无机磷培养基:葡萄糖 10 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, NaCl 0.3 g, KCl 0.3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, 磷矿粉 5 g(全磷含量为 16.56%), 琼脂 20 g, 加蒸馏水至 1 000 mL, pH 7.2~7.4, 放入高压灭菌锅中于 121 °C 灭菌 20 min。

种子培养基:葡萄糖 10 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, NaCl 0.3 g, KCl 0.3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, KH_2PO_4 5 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0~7.5, 121 °C 灭菌 20 min。

无机磷液体培养基:葡萄糖 10 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, NaCl 0.3 g, KCl 0.3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, 磷矿粉 5 g(全磷含量为 16.56%), 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.2~7.4, 放入高压

灭菌锅中于 121 °C 灭菌 20 min。

1.2 试验方法

12.1 菌株的分离及纯化、复筛

称取高温阶段的堆肥样品 10 g, 浸入装有 10 mL 无菌水的三角瓶内, 摇匀, 振荡 15 min, 作为菌源样品。以菌悬液样品制备梯度稀释菌液, 采用涂布平板法, 以无机磷选择培养基分离菌株, 将涂布好的培养基放入恒温培养箱中于 50 °C 培养 48 h, 挑取单个菌落进行纯培养后接种于斜面试管备用。

将初步筛选得到高温无机磷降解菌进行耐热性试验, 将种子分别接种于无机磷固体培养和液体培养基中, 在 4、20、25、30、40、45、50、53、56、60 °C 和 65 °C 下进行培养。能够生长者为阳性, 反之为阴性。

1.2.2 无机磷降解试验

将复筛得到的高温无机磷降解菌接入液体种子培养液, 摇床振荡培养 16 h, 制备菌液。然后将菌液按 5% 的接种量接入 100 mL 液体无机磷培养基中, 于 50 °C, 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的摇床振荡培养, 以无机磷液体培养基 100 mL 加蒸馏水 5 mL 作空白对照(CK), 每 2 d 取样 5 mL, 用钼磷比色法检测各处理降解液中的可溶性磷含量, 判定菌株在高温下分解无机磷的能力。

1.2.3 可溶性磷含量测定

采用钼磷比色法、紫外分光光度计测定吸光度间接测定可溶性磷含量, 发酵液经 1 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液加显示剂及钼锑抗试剂, 并以相应的去离子水为参比液, 作对照组(CK)实验, 在 700 nm 处测样品吸光值。同时制作相应的标准磷曲线, 从而计算出可溶性磷含量和无机磷降解率。

1.2.4 菌株的鉴定

采用常规形态学观察方法对菌株菌落群体形态、个体形态特征进行观察描述; 同时结合对微生物生理生化特征实验测定, 参照《伯杰氏细菌鉴定手册》第 8 版^[23]。

2 结果与分析

2.1 无机磷降解菌株的分离

从多份堆肥样品中共分离纯化得到 6 株无机磷高温降解菌, 对应编号依次为 A~F。在筛选过程中发现, 只有样品的稀释度为 10^{-1} 和 10^{-2} 时, 平板上才有菌落, 且菌落数较少, 说明在高温阶段解磷微生物的活性较小, 无机磷降解菌的菌群简单、菌数较少。这与席北斗等堆肥的三阶段研究中, 高温期大部分微生物被杀死相一致^[24-25]。

鉴于堆肥高温阶段无机磷降解菌的活性受限, 为

了提高高温堆肥过程中磷的转化效率,有必要在堆肥的高温阶段接种高温无机磷降解菌,这符合陈华癸“堆肥过程中接种分解有机物能力强的微生物,可加速堆肥材料的腐熟”的观点^[26],也与 Ichida、Ohtake 等^[27-28]的接种堆肥研究结论相一致。

2.2 耐热性试验

为了测定所得无机磷降解菌的耐热性,将筛选所得的菌株接种于培养基中,在 4~65 ℃ 区间的不同温度下进行培养。由表 1 可知,筛选得到 6 株菌中有 2 株菌(No.C、No.D)的耐热性范围均较广,在 25~55 ℃ 下均能生长,要优于其他几株菌。

表 1 6 株高温无机磷降解菌的耐热性

Table 1 Thermal stabilities of the 6 thermostable inorganic phosphorous-decomposing organisms

温度/℃	No.A	No.B	No.C	No.D	No.E	No.F
4	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-
25	-	-	+	+	-	-
30	+	+	+	+	+	+
41	+	+	+	+	+	+
45	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	+
53	-	-	+	+	-	-
56	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-
65	-	-	-	-	-	-

注: +能够生长, -不能生长。

高温好氧二次堆肥可分为主发酵(一次发酵)和后发酵(二次发酵)两个阶段,主发酵时间大约 7~10 d,其中堆肥温度在 50 ℃ 以上的时间不少于 5 d,才能达到国家关于垃圾处理无害化的要求^[34]。微生物的耐热性范围广,可以适应堆肥过程中较广的温度变化范围,接种于堆肥中后,较长时间处于活化状态,当温度处于其最适的温度范围时,能够快速地进行繁殖扩增,从而达到增加无机磷降解量的目的。

2.3 无机磷降解菌解磷能力的分析

2.3.1 发酵液中 pH 变化

图 1 所示的是 No.C 和 No.D 菌在无机磷液体培养基中摇瓶培养时发酵液 pH 的变化。No.C 菌在培养的前期 pH 呈上升趋势,到第 10 d 达到最高(pH 8.39);No.D 在培养的前 4 d, pH 逐渐下降,于第 4 d 达到最小(pH 6.12),在 4~12 d 又出现缓慢的上升,但在培养 12 d 以后一直呈下降的趋势。

接有 No.C 菌的发酵液在培养的前 10 d pH 呈上

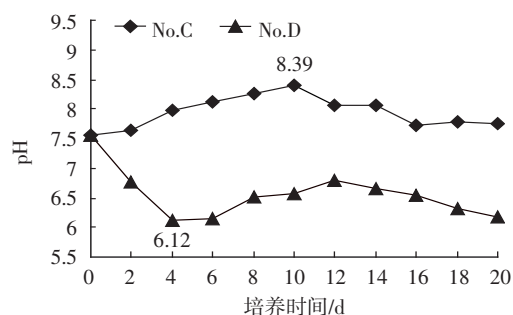


图 1 发酵液中的 pH 的变化

Figure 1 Changes of pH in fermentation fluid

升趋势,可能是由于磷矿粉在发酵液中经解磷菌的降解作用,释放出 PO_4^{3-} 等阴离子,与 H^+ 形成 H_3PO_4 ,使发酵液中的 H^+ 减少,从而使得 pH 升高;No.D 在生长繁殖过程中,由于前期可能产生了大量的有机酸类物质,使发酵液的 pH 下降,发酵后期,由于磷矿粉的降解,释放出阴离子,与 H^+ 相结合,使得发酵液的 pH 上升。从结果可以看出,接有 No.C 号菌的发酵液的 pH 始终 >7.5,解磷效果却优于发酵液 pH <7 的 No.D 号菌,可能是因为在发酵培养过程中, No.C 号菌以酶解为主,而 No.D 号菌却以酸解为主,这与课题组前期对该菌的研究结果相一致。

2.3.2 发酵液中可溶性磷含量变化

图 2、图 3 所示的为接种高温无机磷降解菌的发酵培养基中可溶性磷含量及难溶性磷的降解率随培养时间的变化。接种了 No.C 号解磷菌的发酵液中的可溶性磷含量随着培养时间的延长逐渐增加,最大值达 $263.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,磷矿粉中的无机磷最大降解率为 32.35%,并且在前 12 d 呈线性增长的方式,说明在前期可溶性磷含量的增加速率变化较小;接种了 D 号解磷菌的发酵液中的可溶性磷含量变化呈多项式形式增加的趋势,前期增长缓慢,中间增加较快,后期增量减缓,在培养的第 14 d,发酵液中可溶性磷含量达 $242.9 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,对磷矿粉中无机磷的降解率达 29.78%。

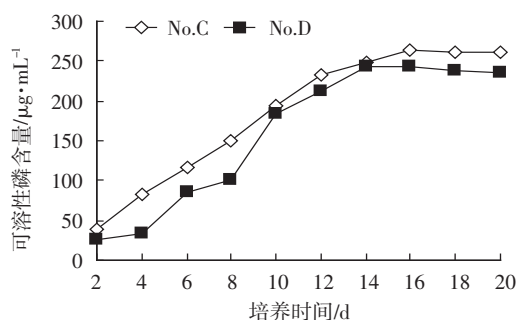


图 2 培养液中的可溶性磷含量变化

Figure 2 Changes of soluble phosphorus content in fermentation fluid

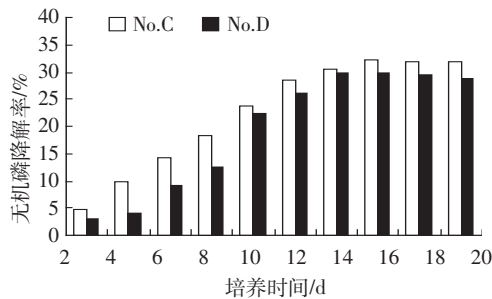


图 3 无机磷降解率变化
Figure 3 Changes of degrading rate of inorganic phosphorus

接种了 No.C、No.D 的发酵液中可溶性磷含量在发酵的后期呈现微弱的下降,主要是因为后期发酵液中的营养成分缺乏,微生物处于衰亡期,不再进行难溶性磷的降解,而发酵液中的一部分可溶性磷由于与发酵液中的一些阳离子相结合,形成稳定的化合物。这与 Wang 研究发现土壤中的磷与 Fe、Ca 和 Al 等结合成无效磷相一致^[1]。

2.4 无机磷降解菌的初步鉴定

2.4.1 形态特征

对具有较高活性的 2 株无机磷降解 No.C 和 D 的群体形态、个体形态特征进行了培养观察,结果列于表 2、表 3。No.C 在琼脂平板上的菌落特征为多边形,边缘呈齿状,不透明,黄灰色,表面较粗糙,有凸起;No.D 在琼脂平板上的菌落边缘较光滑,为圆形,不透明,乳白色,表面较光滑,有凸起;2 株菌在液体培养中均无菌膜,不浑浊、有沉淀。对个体形态特征观察结果表明,2 株菌均为杆菌,革兰氏反应均为阴性,长分别为 2~4 μm、3.5~5.5 μm,宽分别为 0.5~0.7 μm、0.7~1.0 μm,在适当的条件下细胞内形成芽孢,近中生。

2.4.2 生理生化特征

对具有较高活性的 2 株无机磷降解 No.C 和 No.D 的生理生化特征进行了分析,结果列于表 4。研究结果表明,2 株菌的共同点表现为糖醇发酵、接触酶、淀粉水解、脓青素的产生、产氨试验、3-酮基乳糖测定均为阳性,氧化酶、V.P、M.P、丙二酸利用、柠檬酸利用均为阴性。但 No.C 的淀粉产生为阳性、酒石酸利用为阴性, No.D 的淀粉产生为阴性、酒石酸利用为阳性。根据以上 2 株无机磷降解菌的生理生化特征,结合个体形态、群体形态特征分析结果, No.C 初步鉴定为软化芽孢杆菌属(*B.Megaterium*), No.D 初步鉴定为巨大芽孢杆菌属(*B.Macerans*)。

3 结论

本次试验采用无机磷选择培养基,从添加磷矿粉

表 2 高温无机磷降解菌的菌落形态特征
Table 2 Morphological characters of colonies of the thermostable inorganic phosphorous-decomposing microorganisms

培养方式	特征	No.C	No.D
平板培养	形状	多边	圆
	边缘	齿状	光滑
	光学特性	不透明	不透明
	颜色	黄灰色	乳白色
	表面	粗糙	光滑
	突起	微凸	微凸
液体培养	菌膜	无	无
	混浊	混浊	混浊
	沉淀	有沉淀	有沉淀

表 3 高温无机磷降解菌的个体形态特征
Table 3 Morphological characters of individuals of the thermostable inorganic phosphorous-decomposing microorganisms

部位	特征	No.C	No.D
菌体	宽	0.5~0.7 μm	0.7~1.0 μm
	长	2~4 μm	3.5~5.5 μm
	革兰氏反应	-	-
芽孢	形状	椭圆	杆状
	位置	近中	近中

表 4 高温无机磷降解菌的生理生化特征
Table 4 Physiological and biochemical characters of the thermostable inorganic phosphorous-decomposing microorganisms

反应名称	No.C	No.D	反应名称	No.C	No.D
氧化酶	-	-	吡啶试验	+	+
接触酶	+	+	脓青素的产生	+	+
淀粉水解	+	+	丙二酸利用	-	-
淀粉产生	+	-	酒石酸利用	-	+
糖醇发酵	+	+	产氨试验	+	+
V—P	-	-	柠檬酸利用	-	-
甲基红(M.P.)	-	-	3-酮基乳糖测定	+	+

注: + 阳性反应, - 阴性反应。

的高温阶段堆肥样品中分离筛选高温无机磷降解菌,结合无机磷生物降解试验,从多份稀释度为 10⁻¹ 和 10⁻² 的样品中筛选得到 6 株目的菌,这说明在堆肥的高温阶段,高温无机磷降解菌种类及菌群数量较少,所以为了提高堆肥产品质量,有必要向堆肥中接种高温无机磷降解菌。本研究通过耐热性试验进行了复筛,其中的 2 株菌的温度适应范围较广,在高温培养下,对磷矿粉中无机磷的降解效率分别为 32.35% 和 29.78%,为堆肥高效菌剂的开发及其在高温堆肥中的实际应用打下基础。

参考文献:

- [1] Wang G H, Zhou K Q, Jin J. Effect of different C sources on the solubilization of rock phosphate by three phosphate solubilizing fungi (PSF)[J]. *Chinese J Ecology*, 2004, 23(2):32-36.
- [2] 赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展 [J]. 土壤肥料, 2001, 5(3): 7-11.
ZHAO Xiao-rong, Lin Qi-mei. Development reserch of the decompose phourous microorganism[J]. *Soil and Fertilizers*, 2001, 5(3): 7-11.
- [3] 钟传青, 黄为一. 提高磷矿粉肥效的生物学途径[J]. 化肥工业, 2002, 29(2):15-17.
ZHONG Chuan-qing, HUANG Wei-yi. Biological way to enhance the phosphorite fertilizer effectiveness the[J]. *Chemical Fertilizer Industry*, 2002, 29(2):15-17.
- [4] 李国学, 张福锁. 固体废物堆肥化与复混肥生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 47-55.
LI Guo-xue, ZHANG Fu-suo. Composting of the solid waste and produce of the duplicate fertilizer[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 47-55.
- [5] Sackett W G, Pattern A G, Brown C W. The solvent action of soil bacteria upon the insoluble phosphate of raw bone meal natural raw rock phosphate[J]. *Central Bacterial*, 1908, 20:688-703.
- [6] Fox T R, Comerford N B. Low-molecular weight organic acids in selected forest soils of the southeastern USW[J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1990, 54: 1139-1144.
- [7] Strobel B W. Influence of vegetation on low-molecular-weight carboxylic acids in soil solution-A review [J]. *Geoderma*, 2001, 99:169-198.
- [8] 陆海明, 盛海君, 毛健, 等. 有机酸根阴离子对土壤无机磷生物有效性的影响[J]. 扬州大学学报, 2003, 24(2):49-53.
LU Hai-ming, SHENG Hai-jun, MAO Jian, et al. Effects of organic anions on the biological availability of inorganic phosphorus from different fractions in soils[J]. *Journal of Yangzhou University*, 2003, 24(2):49-53.
- [9] Rodriguez H, Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion[J]. *Biotechnol Adv*, 1999, 17:319-339.
- [10] Whitelaw M A. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi[J]. *Adv Agron*, 2000, 69:99-151.
- [11] Vassilev N, Vassileva M, Fenice M, et al. Immobilized cell technology applied in solubilization of insoluble inorganic(rock) phosphates and P plant acquisition[J]. *Bioresour Technol*, 2001, 79:263-271.
- [12] 魏自民, 席北斗, 赵越, 等. 城市生活垃圾外源微生物堆肥对有机酸变化及堆肥腐熟度的影响[J]. 环境科学, 2005, 27(2):376-380.
WEI Zi-min, XI Bei-dou, ZHAO Yue, et al. Inoculating microbes on municipal solid wastes composting affects organic acids and maturity[J]. *Environmental Science*, 2005, 27(2):376-380.
- [13] Makela M, Galkin S, Hatakka A, et al. Production of organic acids and oxalate decarboxylase in lignin-degrading white-rot fungi [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2002, 30:542-549.
- [14] Roukas T. Citric acid production from carob pod by solid state fermentation[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1998, 24:54-59.
- [15] Singh C P, Amberger A. Organic acids and phosphorus solubilization in straw composted with rock phosphate[J]. *Bioresour Technol*, 1998, 63: 13-16.
- [16] Van der Berghe L, Socol C R, Pandey A, et al. Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by *aspergillus niger*[J]. *Bioresour Technol*, 2000, 74:175-178.
- [17] 魏自民, 王世平, 席北斗, 等. 生活垃圾堆肥对难溶性磷有效性的影响[J]. 环境科学, 2007, 28(3):679-683.
WEI Zi-min, WANG Shi-ping, XI Bei-dou, et al. Effect of municipal solid waste composting on availability of insoluble phosphate[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(3):679-683.
- [18] 胡秀芳, 陈集双, 陈海敏. 一株有机磷降解菌的筛选、鉴定及其解磷功效[J]. 中国环境科学, 2005, 25(3):353-356.
HU Xiu-fang, CHEN Ji-shuang, CHEN Hai-min. Screening and identification of one organophosphate-degradation bacterium and its phosphate-degradation efficacy[J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(3):353-356.
- [19] 杜春梅, 金术超. 无机磷分解菌 BL-11 的鉴定及其解磷能力研究[J]. 微生物学通报, 2007, 34(2):283-286.
DU Chun-mei, JIN Shu-chao. Studies on the capacity of phosphate dissolving and the identification of strain BL-11[J]. *Microbiology*, 2007, 34(2):283-286.
- [20] 郭树凡, 朱春玉. 磷细菌 PB12 菌株的选育及培养条件的研究[J]. 微生物学杂志, 2007, 27(2):49-52.
GUO Shu-fan, ZHU Chun-yu. Breeding and culture conditions of phosphate dissolving bacterium PB12[J]. *Microbiolog*, 2007, 27(2): 49-52.
- [21] 朱培森, 杨兴明. 高效解磷细菌的筛选及其对玉米苗期生长的促进作用[J]. 应用生态学报, 2007, 18(1):107-112.
ZHU Pei-miao, YANG Xing-ming. High effective phosphate-solubilizing bacteria; Their isolation and promoting effect on corn seedling growth[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(1):107-112.
- [22] 康貽军, 胡健. 两株解磷真菌的解磷能力及其解磷机理的初步研究[J]. 微生物学通报, 2006, 33(5):22-27.
KANG Yi-jun, HU Jian. Solubilization capacity of insoluble phosphates and it's mechanism by two phosphate solubilizing fungi (PSF)[J]. *Microbiology*, 2006, 33(5):22-27.
- [23] R E 布坎南, N E 吉本斯编. 中国科学院微生物研究所译《伯杰士细菌鉴定手册》[M]. (第八版). 北京: 科学出版社, 1984: 729-746.
Taxonomic outline of the Prokaryotes Bergey's manual of systematic Bacteriology [M]. Eight Edition. Beijing: Publishing Company of Science, 1984: 729-746.
- [24] 席北斗, 孟伟, 刘鸿亮, 等. 三阶段控温堆肥过程中接种复合微生物菌群的变化规律研究[J]. 环境科学, 2003, 24(2):152-155.
XI Bei-dou, MENG Wei, LIU Hong-liang, et al. The variation of inoculation complex microbial community in three stages MSW composting process controlled by temperature[J]. *Environmental Science*, 2003, 24(2):152-155.
- [25] 席北斗, 刘鸿亮, 孟伟, 等. 垃圾堆肥高效复合微生物菌剂的制备[J]. 环境科学研究, 2003, 16(2):58-61.
XI Bei-dou, LIU Hong-liang, MENG Wei, et al. Study on preparation technology of complex microbial community in composting process[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2003, 16(2):58-61.
- [26] 陈华葵. 微生物学[M]. 北京: 北京农业出版社, 1979.
CHEN Hua-kui. Microbiology [M]. Beijing: Publishing company of Beijing Agriculture, 1979.
- [27] Ichida J M, Krizoval, Lefevreca, et al. Bacteria inoculumenh an cesker atinde gradation and biofilm formation in poultry compost[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2001, 47(2):199-208.
- [28] Luciana P.S. Vandenbergh, Carlos R. Socol, et al. Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by *Aspergillus niger* [J]. *Bioresour Technol*, 2000, 74(2):175-178.