

复合菌剂解无机磷条件优化研究

侯佳奇¹, 李鸣晓², 贾璇², 席北斗², 魏自民^{1*}, 党秋玲², 宋彩红², 赵国鹏¹

(1.东北农业大学生命科学院, 哈尔滨 150030; 2.中国环境科学研究院, 北京 100012)

摘要: 研究采用单纯形重心设计方法对3株耐高温解无机磷菌株(P_1 、 P_2 、 P_3)进行了复合功能菌剂的组合, 并通过响应曲面法(RSM)建立了耐高温功能复合菌剂解磷条件的二次多项数学模型, 对复合菌剂的解磷条件进行优化。对7组实验水平的分析结果表明: 组合4($P_1:P_2:P_3=0:50\%:50\%$)各个菌株间能够相互促进, 协同共生效果最佳, 解磷量为 $241.70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 显著高于各单株菌与其他组合。中心组合实验 Box-Behnken 对影响复合功能菌剂解磷量的5个关键因素[培养时间(x_1)、培养温度(x_2)、pH(x_3)、磷矿粉添加量(x_4)、接种量(x_5)]的最佳水平范围及其交互作用进行设计。试验数据多元拟合结果表明: (1)培养时间一次项、pH一次项、培养时间和pH交互项、培养时间和磷矿粉添加量交互项、温度和磷矿粉添加量交互项、以及所有二次项均达到极显著水平($P<0.01$)。 (2)培养时间、pH对复合功能菌剂解磷量影响较强, 其他因素的影响效果由大到小依次为接种量、磷矿粉添加量、温度。 (3)优化得到耐高温复合功能解磷菌剂最佳解磷条件为培养时间 7.18 d, 培养温度 49.98°C , pH 6.63, 磷矿粉添加量 $6.21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 接种量 6.07%。验证试验表明, 响应曲面法可以科学有效构建复合菌剂解磷条件的数学模型, 合理优化解磷条件的影响因素。

关键词: 耐高温解无机磷菌; 解磷条件; 响应曲面法; 单纯形重心设计

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2013)02-0385-08 doi:10.11654/jaes.2013.02.025

Optimizing the Phosphorus-solubilizing Condition of Multiple Species Inoculants

HOU Jia-qi¹, LI Ming-xiao², JIA Xuan², XI Bei-dou¹, WEI Zi-min^{1*}, DANG Qiu-ling², SONG Cai-hong², ZHAO Guo-peng¹

(1. College of life Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Chinese Research Academy of Environmental Science, Beijing 100012, China)

Abstract: Three strains of thermophilic phosphate solubilizing microorganisms named P_1 , P_2 , P_3 , were selected and mixed as multiple species inoculants (MSI) according to Simple-centroid method with Design Expert software. Then quadratic polynomial mathematical model of the solubilized-phosphorus condition of thermophilic MSI was established by response surface methodology (RSM). Compared with seven levels, the results showed that the Phosphate-solubilizing quantity of $P_1:P_2:P_3=0:50\%:50\%$ ($241.70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) level was significantly higher than other MSI. Based on the design of Box-Behnken to optimize the optimal levels and the interaction of five important factors which included the incubation time (x_1), the incubation temperature (x_2), pH (x_3), the content of rock phosphate (x_4), the inoculum size of microorganism (x_5). The results showed that: (1) Linear term of incubation time and pH, interaction term of incubation time and pH, interaction term of incubation time and content of rock phosphate, interaction term of incubation temperature and content of rock phosphate, quadratic term of all the variable were reached extremely significant level ($P<0.01$). (2) Incubation time and pH were the key factors on solubilized-phosphorus capability using MSI. The influence of other factors was the inoculum size of microorganism > rock phosphate proportion > temperature. (3) The optimized result of the solubilized-phosphorus condition of thermophilic compound bacterium was as follows: the inoculum size of microorganism was 6.07%, and the content of rock phosphate was $6.21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ with the incubation temperature at 49.98°C for 7.18 d under 6.63 pH value. Verification tests show that the response surface methodology can scientific and effective build a thermophilic compound bacterium model, reasonably optimize the influencing factors of the solubilizing conditions.

Keywords: high-temperature dissolved inorganic phosphorus strains; solution condition; response surface methodology; simple-centroid method

收稿日期: 2012-08-17

基金项目: 国家科技支撑计划项目村镇有机废弃物高值化分质利用技术集成、装备研发(2012BAJ21B02)

作者简介: 侯佳奇(1987—), 女, 黑龙江伊春人, 主要研究方向为固体废物处理。E-mail: houjiaqi0325@163.com

* 通信作者: 魏自民 E-mail: weizm691120@163.com

磷是植物生长所需的重要营养元素,而大多数土壤中磷素的 95%以上为无效磷,植物很难吸收利用^[1]。目前,我国农用磷肥主要是磷矿粉经加工而成,需要大量硫酸,加工成本较高,长期施用不仅造成土壤板结,也会污染环境。磷矿粉如直接施用于土壤时,肥效又受许多因素限制^[2]。

为提高堆肥难溶性无机磷的转化能力,国内外许多学者将解磷微生物作为研究重点^[3-5],并且初步开展了适于堆肥环境的解无机磷菌剂的筛选驯化工作^[6-8],将筛选驯化后制成的解磷菌剂接种于堆肥中,可较大幅度提高磷素利用率^[9]。综合已有研究,目前国内外对单株解磷菌解磷能力相关报道较多^[10-14],对复合功能菌剂解磷能力的研究报道相对较少。研究表明^[15-16],在堆肥过程中,土生微生物和接种微生物之间存在复杂的竞争关系,随着温度阶段性变化,优势微生物种群也随之改变^[17]。因此,作为特殊功能的堆肥接种剂来说,单一菌种很难长久保持较高活性,而复合菌剂则能够更好地适应这种变化,发挥更大的作用^[18-20]。

目前,研究者们大多通过正交实验和均匀实验等设计方法研究堆肥接种解磷微生物^[9,20],通过响应曲面法研究的报道较少。而响应曲面法不仅可以确定各因素与响应值之间的关系,同时还能精确地表述不同因素间的交互作用对非独立变量的影响^[21-24]。基于此,实验采用单纯形重心设计方法对 3 株耐高温解无机磷菌株进行功能复合菌剂组合,通过响应曲面法对培养时间、培养温度、pH、磷矿粉添加量、微生物接种量等影响解磷能力的关键因素进行优化,考察响应曲面法应用于优化影响复合功能菌剂解磷条件可能性,同时为提高磷素利用率以及无机磷复合功能菌剂在堆肥中成功应用提供研究依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:实验前期课题组于堆肥中筛选得到 3 株在 50 ℃具有较强解磷能力的菌株 P₁、P₂、P₃ (50 ℃条件下,解磷量分别为 162.58、183.17、171.46 mg·L⁻¹),经 16S rDNA 及 ITS 基因鉴定三株菌株均为曲霉属。

磷矿粉:取自贵州省贵阳市,粒径<0.25 mm, *w*(水溶性磷)为 0.25%。

实验所用培养基包括 PKO 培养基、无机磷分解培养基、种子培养基和发酵培养基。

1.2 主要仪器

WGP400 型隔水式电热恒温培养箱(重庆四达试

验设备有限公司), DHZ-CA 型气浴式摇床(江苏亿通仪器有限公司), UV2102C 紫外可见分光光度计(上海尤尼克斯仪器有限公司), pHs-2C 型酸度计(杭州索神电子科技有限公司), TGL-16A 冷冻离心机(上海菲恰尔制造厂)。

1.3 实验设计与方法

1.3.1 解磷菌的复合配比研究

采用钼锑抗比色法、钒钼黄比色法^[25]测定各复合功能菌剂可溶性磷、微生物量磷含量,通过 Design Expert 软件的单纯形重心实验设计方法确定耐高温解无机磷复合功能菌剂各菌株间的最佳配比。

1.3.2 耐高温复合解磷菌剂解磷条件的优化

采用中心组合实验 Box-Behnken 设计方案,以培养时间(d)、温度(℃)、pH、磷矿粉添加量(g·L⁻¹)、接种量(%) 5 个因子为自变量,分别以 x_1 、 x_2 、 x_3 、 x_4 、 x_5 表示,取值范围分别为 2~10、45~55 ℃、6~8 g·L⁻¹、4~8 g·L⁻¹、3%~11%。对自变量按如下方程进行编码:

$$x_i = (Z_i - Z_{i0}) / \Delta Z_i$$

式中: x_i 为自变量的编码值, Z_i 为自变量的真实值, Z_{i0} 为试验中心点处自变量的真实值, ΔZ_i 为自变量的变化步长,以复合菌剂解磷总量为响应值(Y)。实验自变量因素编码以及水平见表 1。

表 1 解磷条件优化试验因素与水平

Table 1 Factors and levels in optimizing the solution condition of inorganic phosphorus

因素 X	水平		
	-1	0	+1
x_1 时间/d	2	6	10
x_2 温度/℃	45	50	55
x_3 pH	6	7	8
x_4 磷矿粉/g·L ⁻¹	4	6	8
x_5 接种量/%	3	7	11

1.3.3 数据处理分析方法

利用 Box-Behnken 的中心组合实验设计方法进行响应曲面优化,使用统计分析软件 Design Expert 7.1.6 拟合出相应模型,得出最佳解磷条件。

2 结果与讨论

2.1 各复合功能菌剂解磷能力分析

根据 Design Expert 混料试验设计方法对三株解磷菌株进行复合功能菌剂配比,见表 2。对各组合解磷总量的数据进行比较分析可以看出,不同比例的菌

株组合,其解磷效果差异显著。最大解磷量是最小解磷量的 2.46 倍。复合功能菌剂 1 ($P_1:P_2:P_3=50\%:0:50\%$)解磷能力最弱,是单株菌中解磷能力最弱菌株 P_1 的 0.6 倍。这可能是由于菌株 P_1 和 P_3 代谢产物抑菌或二者竞争利用底物及营养物质造成的。组合 4 ($P_1:P_2:P_3=0:50\%:50\%$)在 7 种组合当中解磷能力最强,解磷量为 $241.70\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,明显高于各单株菌的解磷能力。表明复合功能菌剂 4 菌株之间能够相互促进,协同共生。因此确定复合功能菌剂 4 ($P_1:P_2:P_3=0:50\%:50\%$)为最优解磷组合。

2.2 Box-Behnken 试验结果与分析

2.2.1 试验结果

采用 Box-Behnken 实验方法对复合功能菌剂 4 设计 46 组解磷条件变化,试验结果见表 3。

2.2.2 模型建立及显著性检验

利用 Design Expert(version 7.6.1)软件对表 3 试验数据进行多元拟合,获得复合功能菌剂解磷总量(Y)对自变量培养时间(x_1)、培养温度(x_2)、pH(x_3)、磷

表 2 各组复合菌剂解磷能力比较

Table 2 The phosphate-solubilizing capacity of the complex functional bacteria

菌剂组合	$P_1/\%$	$P_2/\%$	$P_3/\%$	可溶性磷/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	微生物量磷/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	解磷总量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
1	0.500	0.000	0.500	53.76	44.64	98.40
2	0.000	1.000	0.000	49.25	141.45	190.70
3	0.000	0.000	1.000	56.91	121.05	177.96
4	0.000	0.500	0.500	35.86	205.84	241.70
5	0.500	0.500	0.000	52.40	136.12	188.52
6	1.000	0.000	0.000	37.93	120.37	158.30
7	0.333	0.333	0.333	42.41	132.09	175.50

矿粉(x_4)、接种量(x_5)的二元多项回归模型方程:

$$Y=250.22+10.48x_1-0.37x_2-12.83x_3-0.84x_4-3.54x_5+1.18x_1x_2-19.48x_1x_3+27.75x_1x_4-4.22x_1x_5-2.67x_2x_3-20.49x_2x_4-4.96x_2x_5+4.14x_3x_4+2.99x_3x_5+3.19x_4x_5-36.45x_1^2-11.92x_2^2-25.72x_3^2-24.14x_4^2-11.82x_5^2$$

该模型方差分析结果见表 4,模型系数显著性检验结果见表 5。

表 3 Box-Behnken 设计实测值及预测值

Table 3 Experimental values and predicted values of Box-Behnken design

试验号	因素					解磷总量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	
	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	实测值	预测值
1	2	45	7	6	7	190.58	192.92
2	10	45	7	6	7	210.06	211.52
3	2	55	7	6	7	189.87	189.82
4	10	55	7	6	7	214.07	213.13
5	6	50	6	4	7	230.38	218.17
6	6	50	8	4	7	189.94	184.23
7	6	50	6	8	7	216.38	208.20
8	6	50	8	8	7	192.51	190.83
9	6	45	7	6	3	221.38	225.43
10	6	55	7	6	3	243.70	234.61
11	6	45	7	6	11	223.64	228.27
12	6	55	7	6	11	226.11	217.60
13	2	50	6	6	7	165.77	170.92
14	10	50	6	6	7	225.27	230.84
15	2	50	8	6	7	181.09	184.23
16	10	50	8	6	7	162.66	166.22
17	6	50	7	4	3	206.52	221.83
18	6	50	7	8	3	211.58	213.77
19	6	50	7	4	11	195.59	208.37
20	6	50	7	8	11	213.41	213.07
21	6	45	6	6	7	225.90	223.11
22	6	55	6	6	7	210.38	227.70
23	6	45	8	6	7	215.26	202.79
24	6	55	8	6	7	189.07	196.71
25	2	50	7	4	7	213.93	207.75
26	10	50	7	4	7	164.55	173.19
27	2	50	7	8	7	158.48	150.55
28	10	50	7	8	7	220.12	227.02
29	6	50	6	6	3	234.52	232.04
30	6	50	8	6	3	197.71	200.41
31	6	50	6	6	11	221.36	218.98
32	6	50	8	6	11	196.50	199.30
33	2	50	7	6	3	189.95	190.80
34	10	50	7	6	3	233.70	220.18
35	2	50	7	6	11	189.46	192.15
36	10	50	7	6	11	216.35	204.67
37	6	45	7	4	7	198.90	194.87
38	6	55	7	4	7	243.73	235.12
39	6	45	7	8	7	227.37	234.18
40	6	55	7	8	7	190.22	192.45
41	6	50	7	6	7	252.18	250.22
42	6	50	7	6	7	246.95	250.22
43	6	50	7	6	7	254.57	250.22
44	6	50	7	6	7	237.51	250.22
45	6	50	7	6	7	252.18	250.22
46	6	50	7	6	7	257.93	250.22

表 4 回归模型方差分析
Table 4 Analyze of mean square

来源 Source	平方和 SS	自由度 DF	均方 MS	F 值 F	P 值 (Prob>F)
Model	26 530.74	20	1 326.54	13.62	<0.000 1
残差 Residual	2 434.31	25	97.37		
失拟项 Lack of fit	2 176.02	20	108.80	2.11	0.209 3
纯误差 Pure error	258.29	5	51.66		
总和 Cor total	28 965.05	45			

$R=0.957\ 1, R^2=0.916\ 0, R_{adj}^2=0.848\ 7$

方差分析结果表明,不同影响条件下复合功能菌剂解磷总量所建立的回归模型是极显著的($P<0.000\ 1$),该方程的决定系数 $R^2=0.910\ 6$,表明响应值的变化有 91.06%来自于所选变量^[26]。由表 5 可以看出,培养时间一次项、pH 一次项、培养时间和 pH 交互项、培养时间和磷矿粉添加量交互项、温度和磷矿粉添加量交互项、所有变量二次项均达到极显著水平($P<0.01$),信噪比(Adeq Precision)为 14.949,在可接受范围内(>4),模型失拟项为 0.209 3,不显著。因此可用该回归方程代替试验真实点对实验进行分析^[27]。

由表 5 还可以看出, x_1 (培养时间)、 x_3 (pH)对复

合功能菌剂解磷能力影响较强,其他因素影响效果由大到小依次为 x_5 (接种量)、 x_4 (磷矿粉添加量)、 x_2 (温度)。

2.2.3 复合菌剂解磷量响应曲面优化

回归模型部分影响因素的响应曲面及其等高线见图 1~图 3。该组图以影响因素中的 3 个变量为中点值,考察另 2 个变量对响应值解磷量的交互影响效应。

图 1 显示了在磷矿粉添加量、pH、接种量取零水平时,培养时间与温度交互影响解磷量的曲面图及其等高线图。由图 1 可知,实验水平范围内,当温度条件一定时,解磷量随时间增加呈先增大后减小的趋势,且变幅较为明显;当反应时间一定时,解磷量随温度的升高也呈现先增大后减小的趋势,但变幅较小,这是因为随着培养时间的增加,微生物逐渐适应培养环境,酶活性增强,解磷量也随之升高,但是当解磷量累积到一定程度后,随着培养时间增加磷矿粉逐渐分解,培养基中营养物质逐渐消耗,微生物活性降低甚至死亡,故解磷量也随之降低;当培养温度较低时,解磷菌活性较低,随温度上升,解磷菌活性提高,解磷量

表 5 回归方程系数显著性检验
Table 5 Test of significance for regression coefficients

系数项 Model term	回归系数 Coefficient estimate	自由度 DF	标准差 Standard error	95%置信下限 95%CI low	95%置信上限 95%CI high	P 值 Prob>F
Intercept	250.22	1	4.03	241.92	258.52	
x_1	10.48	1	2.47	5.40	15.56	0.000 3
x_2	-0.37	1	2.47	-5.45	4.71	0.881 6
x_3	-12.83	1	2.47	-17.91	-7.75	<0.000 1
x_4	-0.84	1	2.47	-5.92	4.24	0.735 8
x_5	-3.54	1	2.47	-8.62	1.54	0.163 7
x_1x_2	1.18	1	4.93	-8.98	11.34	0.812 9
x_1x_3	-19.48	1	4.93	-29.64	-9.32	0.000 6
x_1x_4	27.75	1	4.93	17.59	37.92	<0.000 1
x_1x_5	-4.22	1	4.93	-14.38	5.95	0.401 1
x_2x_3	-2.67	1	4.93	-12.83	7.49	0.593 5
x_2x_4	-20.49	1	4.93	-30.66	-10.33	0.000 3
x_2x_5	-4.96	1	4.93	-15.12	5.20	0.324 1
x_3x_4	4.14	1	4.93	-6.02	14.30	0.409 1
x_3x_5	2.99	1	4.93	-7.17	13.15	0.550 3
x_4x_5	3.19	1	4.93	-6.97	13.35	0.523 8
x_1^2	-36.45	1	3.34	-43.33	-29.57	<0.000 1
x_2^2	-11.92	1	3.34	-18.80	-5.04	0.001 5
x_3^2	-25.72	1	3.34	-32.60	-18.84	<0.000 1
x_4^2	-24.14	1	3.34	-31.02	-17.26	<0.000 1
x_5^2	-11.82	1	3.34	-18.70	-4.94	0.001 6

增加,但当温度超过一定数值(50 ℃左右),解磷菌活性受到抑制,解磷效果降低,解磷量下降。从图中还可以看出,温度、时间与解磷量关系曲面存在一个峰值,即其他条件不变时,温度、时间存在最佳的解磷效果组合,此时的解磷量为 $250.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,控制温度为 $50.06 \text{ }^{\circ}\text{C}$,培养时间为 6.55 d 。

图 2 显示了在培养温度、pH、磷矿粉添加量取零水平时,培养时间与接种量交互影响解磷量的曲面图及其等高线图。图 2 与图 1 的变化规律较为相似,在接种量一定时,解磷量在一定反应时间(7 d 左右)达到最大值,此后开始降低,且解磷量随时间变化较为明显;这是由于复合功能菌剂中微生物不断吸收培养基中的营养物质,生长较快,代谢旺盛,很快达到对数生长期;当代谢产物累积到一定程度后,培养基中的营养物质不能满足其持续生长所需养分,生长较慢,趋向衰亡期,对磷矿粉的降解能力下降;在不同反应时间下,解磷量均表现出开始时随接种量增加而增大,随后开始降低的趋势,在接种量<7%左右时,趋势变化不太显著,接种量>7%左右时,变化趋势明显。说明微生物量在一定范围内(<7%左右)变化,对复合功能菌剂的解磷能力有较大影响,当所需营养逐渐达到培养基的最大营养供给负荷,对解磷能力影响逐渐变小。即接种量超出一定范围(>7%左右),再增加接种量意义不大。接种量、培养时间与解磷量关系曲面也存在一个峰值点,此时的解磷量为 $251.34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,接种量为 6.30% ,培养时间为 6.61 d 。

图 3 显示了在培养时间、磷矿粉添加量、接种量取零水平时,培养温度与 pH 间交互影响解磷量的曲

面图及其等高线图。由图 3 可知,实验水平范围内,解磷量随培养温度和 pH 的增高均呈现先增大再减小的趋势,解磷量随 pH 的变化较为明显,随培养温度变化不明显。在趋于最适 pH 的渐变过程中,微生物的解磷量不断升高,但是微生物通过生物转化可产生低分子有机酸^[28],过多的有机酸积累会抑制酶的活性,不利于微生物的生长,使解磷量下降^[29],因此 pH 过低对解磷效果产生不利影响。培养温度可影响微生物活性^[30-31],复合功能菌剂中的微生物是实验前期经高温驯化所得,本实验选取优化的温度范围为 $45 \sim 55 \text{ }^{\circ}\text{C}$,在菌种最适耐受范围内,故温度在这区间内变化,对解磷量的影响不显著。从图中还可看出,培养温度和 pH 对于解磷效果也存在一个最优组合,此时的解磷量为 $251.80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,控制 pH 为 6.72 ,培养温度为 $50.07 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

2.2.4 最佳解磷条件的确定及模型验证

通过软件分析,对模型方程解逆矩阵,得到耐高温复合解磷菌剂的最佳解磷条件为培养时间 7.18 d ,培养温度 $49.98 \text{ }^{\circ}\text{C}$,pH 为 6.63 ,磷矿粉添加量 $6.21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,接种量 6.07% 。在此条件下,解磷量理论值为 $257.93 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,高于任意两种因素组合下的解磷值,这是由于解磷量受多种因素共同作用影响,只有当各解磷条件均处于最优值时,复合菌剂才有最大解磷量。

取培养时间、培养温度、pH、磷矿粉添加量、接种量最佳值作验证试验,所得实际解磷量为 $253.81 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,与理论预测值比较相对误差仅为 1.60% ,因此,此预测模型在本试验研究范围内科学合理。采用响应曲面法优化得到的耐高温解无机磷复合功能菌剂的最

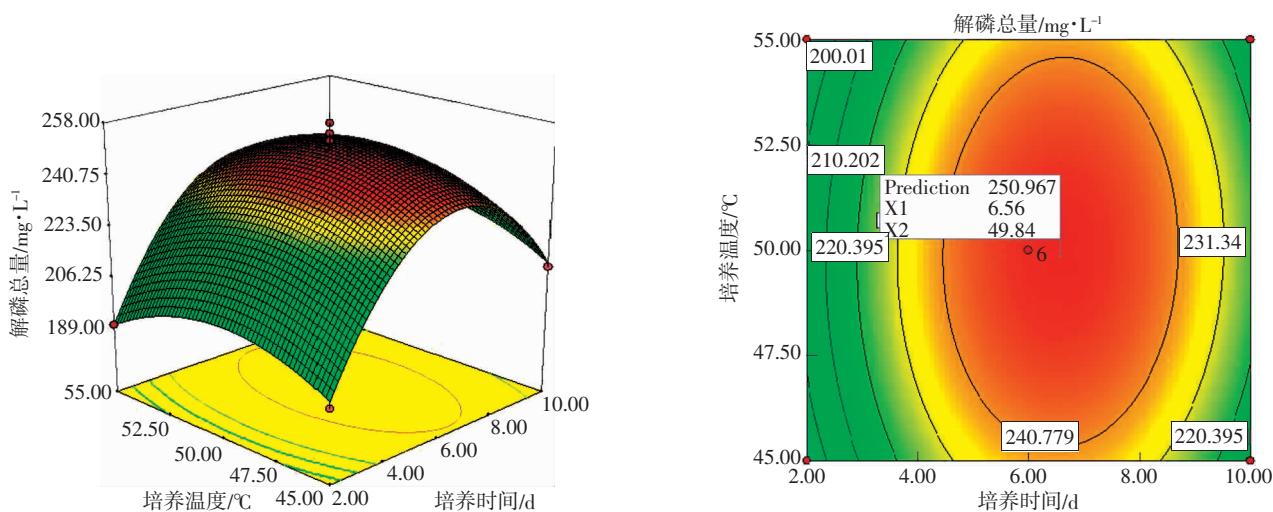


图 1 培养时间和温度交互影响解磷能力的曲面及其等高线

Figure 1 Surface layer and contour of the mutual-affecton of incubation time and culture temperature on solubilized-phosphorus capability

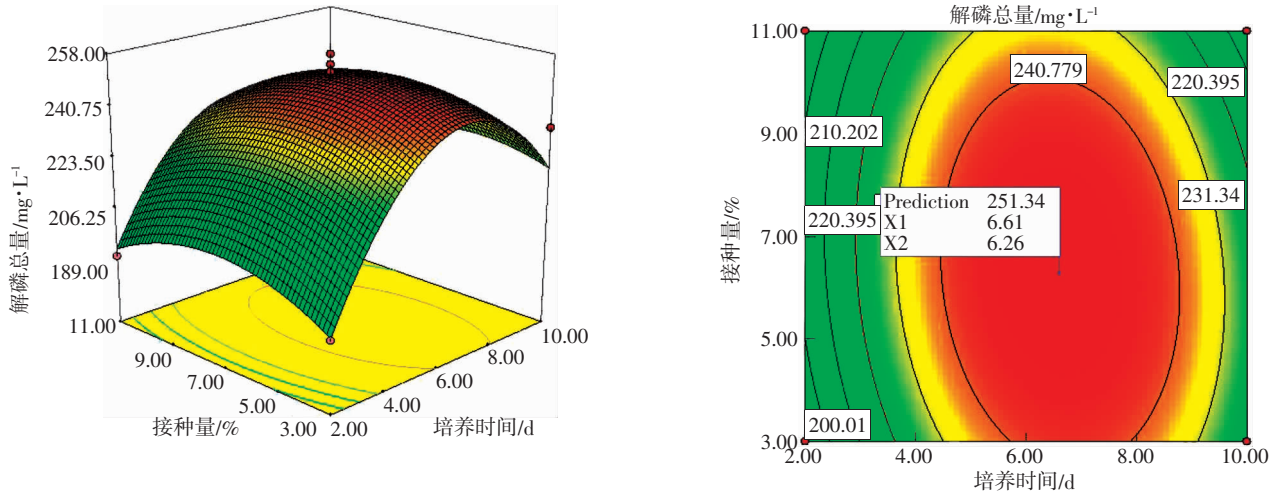


图 2 培养时间和接种量交互影响解磷能力的曲面及其等高线

Figure 2 Surface layer and contour of the mutual-affect of incubation time and inoculum size of microorganism on solubilized-phosphorus capability

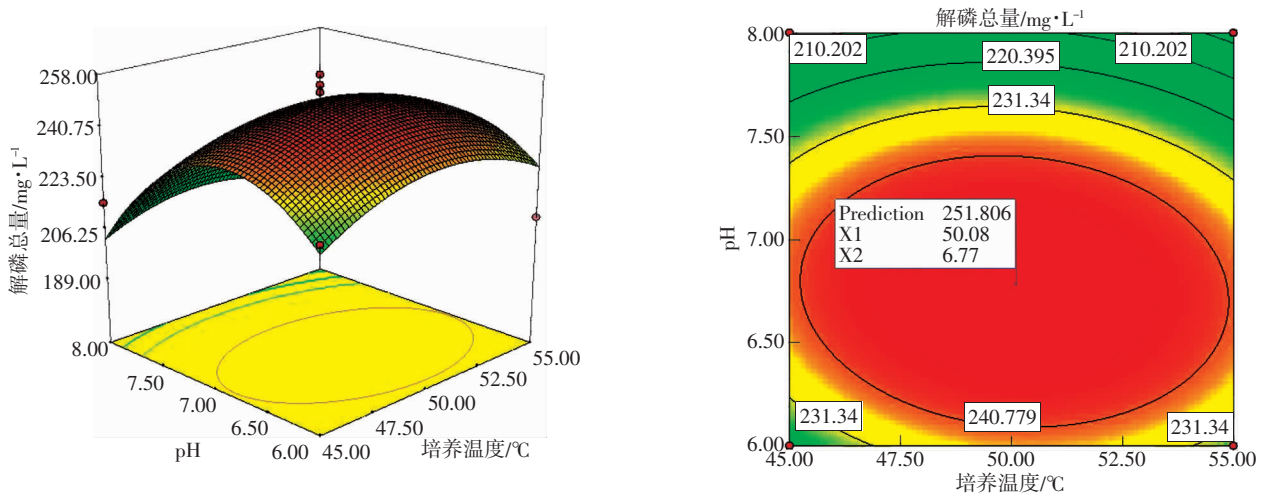


图 3 培养温度和 pH 交互影响解磷能力的曲面及其等高线

Figure 3 Surface layer and contour of the mutual-affect of temperature and pH on solubilized-phosphorus capability

佳解磷条件参数准确可靠,具有实用价值。

3 结论

(1)复合菌剂 1 和 6 解磷能力均低于单菌株中解磷能力最弱菌株 P_1 ,其余各组合解磷能力均高于解磷能力最强菌株 P_3 。说明复合功能菌剂中不同菌株之间会产生拮抗作用和协同作用。

(2)不同比例的菌株组合,其解磷效果差异显著。功能复合菌剂组合 4($P_1:P_2:P_3=0:50\%:50\%$)在 7 种组合中解磷能力最强,为 $241.70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,明显高于各单菌株的解磷能力。

(3)利用试验设计软件 Design Expert,通过响应面法(RSM)建立了耐高温复合解磷菌剂解磷条件的

二次多项数学模型,以解磷量为响应值,通过模型响应面及等高线对解磷条件及其交互关系研究,结果表明:

①培养时间一次项、pH 一次项、培养时间和 pH 交互项、培养时间和磷矿粉添加量交互项、温度和磷矿粉添加量交互项、以及所有二次项均达到极显著水平($P<0.01$)。

②培养时间、pH 对复合功能菌剂解磷能力影响较强,其他因素的影响效果由大到小依次为接种量、磷矿粉添加量、温度。

③优化得到耐高温复合解磷菌剂的最佳解磷条件为培养时间 7.18 d,培养温度 $49.98 \text{ }^{\circ}\text{C}$,pH6.63,磷矿粉添加量 $6.21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,接种量 6.07%。验证试验表明,

利用该回归模型对解磷条件的优化研究,科学合理,快速有效。

参考文献:

- [1] 邵宗臣, 赵美芝. 土壤中积累态磷活化动力学的研究 I. 有机质的影响[J]. 土壤学报, 2002, 39(3): 318-325.
SHAO Zong-chen, ZHAO Mei-zhi. Activation kinetics of accumulative phosphorus in soils. I. The effects of organic matter[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(3): 318-325.
- [2] 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 route to improvement in fertilizer efficiency of ground phosphate rock[J]. *Chemical Fertilizer Industry*, 2002, 29(2): 15-17.
- [3] 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.
- [4] Milkha S Aulakh, Bachitter S Kabba, Baddesha H S, et al. Crop yields and phosphorus fertilizer transformations after 25 years of applications to a subtropical soil under groundnut-based cropping systems[J]. *Field Crops Research*, 2003, 83(3): 283-296.
- [5] Yu Kudayarova A. Aluminium phosphates as products of transformations of fertilizer phosphorus in an acid soil[J]. *Geoderma*, 1981, 26(3): 195-201.
- [6] Milkha S Aulakh, Nanak S Pasricha, Gulshan S Bahl. Phosphorus fertilizer response in an irrigated soybean-wheat production system on a subtropical, semiarid soil[J]. *Field Crops Research*, 2003, 80(2): 99-109.
- [7] 单德鑫, 李淑芹, 许景钢. 好氧堆肥对难溶性磷转化的影响[J]. 环境科学学报, 2009, 29(1): 146-150.
SHAN De-xin, LI Shu-qin, XU Jing-gang. Effects of aerobic composting on transformation of rock phosphate[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 29(1): 146-150.
- [8] 尹瑞龄, 许月蓉, 顾希贤. 解磷接种物对垃圾堆肥中难溶性磷酸盐的转化及在农业上的应用[J]. 应用与环境生物学报, 1995, 4(1): 373-378.
YIN Rui-ling, XU Yue-rong, GU Xi-xian. Effect of phosphate-dissolving inoculant (PDI) on transformation of insoluble phosphate in refuse compost and its application in agriculture[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 1995, 4(1): 373-378.
- [9] 杨天学, 席北斗, 栗越妍, 等. 耐高温解无机磷菌解磷条件的优化[J]. 环境科学研究, 2009, 22(3): 294-298.
YANG Tian-xue, XI Bei-dou, LI Yue-yan, et al. Optimizing the solution condition of a thermostable and soluble inorganic phosphorus microorganism[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2009, 22(3): 294-298.
- [10] 李鸣晓, 席北斗, 魏自民, 等. 耐高温解磷菌的筛选及解磷能力研究[J]. 环境科学研究, 2008, 21(3): 165-169.
LI Ming-xiao, XI Bei-dou, WEI Zi-min, et al. Screening and characterization of phosphate-solubilizing microorganisms at high temperature[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2008, 21(3): 165-169.
- [11] 魏自民, 席北斗, 王世平, 等. 高温解磷菌对堆肥所添加难溶性磷素转化的试验研究[J]. 环境科学, 2008, 29(7): 2073-2076.
WEI Zi-min, XI Bei-dou, WANG Shi-ping, et al. Phosphate transform of composting with pre-mixing insoluble phosphate using high temperature dissolved phosphorus microbes inoculation[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(7): 2073-2076.
- [12] 陈俊, 陆俊昆, 康丽华, 等. 红树林溶磷菌的初步鉴定、溶磷能力测定及其优化培养[J]. 微生物学通报, 2009, 36(8): 1183-1188.
CHEN Jun, LU Jun-kun, KANG Li-hua, et al. Primary identification, capability of phosphate-solubilization and optimization of medium of some microorganism from mangrove[J]. *Microbiology*, 2009, 36(8): 1183-1188.
- [13] 郑世仲, 江胜滔, 黄燕翔, 等. 土壤中有机关解磷细菌的分离筛选及鉴定[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(15): 24-26.
ZHENG Shi-zhong, JIANG Sheng-tao, HUANG Yan-xiang, et al. Isolation and screening of organophosphate-dissolving bacterium and its identification in soil[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2009, 15(15): 24-26.
- [14] 陈倩颖, 胡子全, 刘连生, 等. 6株有机磷细菌的分离鉴定[J]. 安徽农业大学学报, 2009, 36(3): 417-421.
CHEN Qian-ying, HU Zi-quan, LIU Lian-sheng, et al. Isolation and identification of six phosphate-solubilizing bacteria[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2009, 36(3): 417-421.
- [15] 徐智, 张隼利, 张发宝, 等. 接种内外源微生物菌剂对堆肥效果的影响[J]. 中国环境科学, 2009, 29(8): 856-860.
XU Zhi, ZHANG Long-li, ZHANG Fa-bao, et al. Effects of indigenous and exogenous microbial inocula on composting in a bioreactor[J]. *China Environmental Science*, 2009, 29(8): 856-860.
- [16] Mitali D, Todd V R, Laura G L. Diversity of fungi, bacteria, and actinomycetes on leaves decomposing in a stream [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(3): 756-767.
- [17] 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.
- [18] Wang Y F, Lee W J, Chen C Y, et al. Decomposition of dichlorodifluoromethane by adding hydrogen in a cold plasma system[J]. *Environmental Science Technology*, 1993, 33(13): 2234-2240.
- [19] Swati Karmakar, Howard L Greene. Oxidative destruction of chlorofluorocarbons by zeolite catalysts[J]. *Journal of Catalysis*, 1992, 138(1): 364-376.
- [20] 胡春明, 姚波, 席北斗, 等. 堆肥复合功能菌剂的优化组合研究[J]. 环境科学研究, 2010, 23(8): 1039-1043.
HU Chun-ming, YAO Bo, XI Bei-dou, et al. Study on optimized combination of complex functional bacteria in compost[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2010, 23(8): 1039-1043.
- [21] Trupkin S, Levin L, Forchiassin F, et al. Optimization of a culture medium for ligninolytic enzyme production and synthetic dye decoloration[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2008, 21(3): 165-169.

- orization using response surface methodology[J]. *Ind Microbiol Biotechnol*, 2003, 30:682-690.
- [22] Sarayu Mohana, Shalini Shrivastava, Jyoti Divecha. Response surface methodology for optimization of medium for decolorization of textile dye Direct Black 22 by a novel bacterial consortium[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99:562-569.
- [23] Gurusamy Annadurai, Lai Yi Ling, Jiunn-Fwu Lee. Statistical optimization of medium components and growth conditions by response surface methodology to enhance phenol degradation by *Pseudomonas putida*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 151:171-178.
- [24] Myers R H. Response Surface Methodology current status and future directions[J]. *Journal of Quality Technology*, 1999, 31(1):30-74.
- [25] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000.
- LU Ru-kun. Analysis methods of soil agricultural chemistry[M]. Beijing:Chinese Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [26] 黄璞, 谢明勇, 聂少平, 等. 响应曲面法优化微波辅助提取黑灵芝孢子多糖工艺研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(10):200-203.
- HUANG Pu, XIE Ming-yong, NEI Shao-ping, et al. Study on microwave-assisted extraction of polysaccharides from spores of *ganoderma atrum* with response surface analysis [J]. *Food Science*, 2007, 28(10):200-203.
- [27] 周纪芎. 实用回归分析方法[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1990:77-79.
- ZHOU Ji-xiang. Application of regression analysis method[M]. Shanghai:Shanghai Science and Technology Press, 1990:77-79.
- [28] 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*, 2006, 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*, 2006, 27(2):376-380.
- [29] Divya K Patel, Prayag Murawala, Archana G, et al. Repression of mineral phosphate solubilizing phenotype in the presence of weak organic acids in plant growth promoting fluorescent pseudomonads [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3):3055-3061.
- [30] Carl J Mikan, Joshua P Schimel, Allen P Doyle. Temperature controls of microbial respiration in arctic tundra soils above and below freezing [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 34(11):1785-1795.
- [31] Paul Dijkstra, Scott C Thomas, Paul L Heinrich, et al. Effect of temperature on metabolic activity of intact microbial communities:Evidence for altered metabolic pathway activity but not for increased maintenance respiration and reduced carbon use efficiency [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(10):2023-2031.

欢迎订阅 2013 年《农业环境与发展》

《农业环境与发展》创刊于 1984 年,农业部主管、是由农业部环境保护科研监测所与中国农业生态环境保护协会联合主办的综合指导类科技期刊,为中国科技核心期刊。传播农业可持续发展新思想、新观点、新方略,倡导农业生产、农民生活、农村生态协调发展理念,多视角、多层次、多学科地反映食品安全与健康、资源开发与利用、环境污染与防治、农业清洁生产与农村循环经济等热点问题,直接面向农业、环保、食品、能源、卫生等领域的科研、教学、生产、管理、技术推广人员与大众读者。同时,《农业环境与发展》将在重要版面上宣传各地农业环境保护成就。欢迎大家踊跃投稿,欢迎刊登广告。

《农业环境与发展》为双月刊,大 16 开,96 页,逢双月 25 日出版,刊号 ISSN 1005-4944, CN 12-1233/S,国内外公开发行,各地邮电局(所)均可订阅,邮发代号 6-40,2013 年每册定价 12.00 元,全年 72.00 元。有漏订者可直接与编辑部联系订阅。本刊现有过刊合订本,需订购者请与本刊编辑部联系。

编辑部地址:天津市南开区康复路 31 号

邮政编码:300191

电话:022-23611149

传真:022-23674336

电子信箱:caed@vip.163.com

网址:www.aed.org.cn