

去除 U(VI) 的微生物组合构建及培养条件的优化

刘小玲^{1,2}, 陈晓明^{1,2*}, 阮晨^{1,2}, 廖祥兵^{1,2}

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621010; 2. 西南科技大学核废物与环境安全国防重点学科实验室, 四川绵阳 621010)

摘要 [目的] 为了筛选 U(VI) 的抗性微生物及建立高效去除 U(VI) 的微生物组合。[方法] 通过单菌株与混合菌株对 U(VI) 的抗性比较, 采用正交试验对微生物组合的培养条件进行优化。[结果] 除考式玫瑰菌外, XJ1、耐辐射奇球菌、柠檬酸杆菌 3 种微生物均能耐受 50 mg/L U(VI), 其中耐辐射奇球菌和柠檬酸杆菌对 30 mg/L U(VI) 的去除率分别达到 80.4% 和 84.8%; 与单菌株对 U(VI) 的抗性相比, 柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌组合对 U(VI) 的抗性有明显的促进作用。最佳条件为 pH 6.0、温度 30 ℃、U(VI) 初始浓度 10 mg/L, 该组合对 U(VI) 的去除率可达到 98.3%。[结论] 筛选的微生物组合及其培养条件的优化可为微生物修复核素提供理论依据。

关键词 U(VI); 抗性微生物; 柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌组合; 正交试验; 优化

中图分类号 S182; X703 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)13-083-04

Construction of Microbial Combination and Optimization of Culture Conditions to U(VI)

LIU Xiao-ling^{1,2}, CHEN Xiao-ming^{1,2*}, RUAN Chen^{1,2} et al (1. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010; 2. School of National Defense Science and Technology, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010)

Abstract [Objective] The research aimed to screen the resistant microorganisms and establish the efficient microbial combination to the removal of U(VI). [Method] Resistance of single strain and mixed strains to U(VI) were compared. The cultivation conditions of microbial combination were optimized by microbial combination. [Result] Except *Kocuria rosea*, three microorganisms including XJ1, *Deinococcus radiodurans* and *Citrobacter freundii* were resistant to 50 mg/L U(VI). The removal rate of *Deinococcus radiodurans* and *Citrobacter freundii* to U(VI) reached 80.4% and 84.8%. *Citrobacter freundii*-*Deinococcus radiodurans* combination played an obvious promotion on the resistance to U(VI) with single strain. The optimum condition was as follows: pH 6.0, temperature 35 ℃, and the initial concentration of U(VI) 10 mg/L. The removal rate of *Citrobacter freundii*-*Deinococcus radiodurans* to U(VI) was up to 98.3%. [Conclusion] Screening of microbial combination and optimization of culture conditions could provide theoretical basis for microbial remediation of nuclide.

Key words U(VI); Resistant microorganisms; *Citrobacter freundii*-*Deinococcus radiodurans* combination; Orthogonal experiment; Optimization

近年来,随着铀矿开采和核工业技术的发展,铀及其化合物得到广泛应用,但产生的含铀废物对周围水体及环境造成的污染也越来越严重,且伴随着其他放射性核素和金属污染如 U²³⁵、Pu²³⁸、Cr、Mn、Fe 等。其中,铀是一种对人体有放射性的核素,主要累积在肝脏、肾和骨骼,造成细胞的分化、凋亡等^[1]。相对物理与化学修复技术,生物修复方法因具有显著的优势而得到大量研究者的关注。目前,人们已发现枯草芽孢杆菌、硫酸盐还原菌、柠檬酸杆菌、蜡芽芽孢杆菌、耐辐射奇球菌等多种微生物对重金属(核素)有去除作用^[2-6]。杨晶等^[7]指出,微生物与铀作用的机理包括表面配合、氧化还原、无机微沉淀、离子交换等机理。但是,部分微生物对 Cd、Hg、Ag 等金属非常敏感,甚至受到重金属(核素)的毒害作用^[8]。

随着环境条件的改变,微生物的生长可引起自身形态、生长、繁殖等特征的改变,从而适应周围环境的变化,但是当某些条件的改变超过微生物的极限时,也可引起微生物的死亡。据报道,微生物对重金属(核素)的去除效应易受到 pH、温度、金属离子浓度、作用时间、接种量等多种因素的影响^[9]。因此,筛选 U(VI) 的抗性微生物及微生物组合,优化微生物组合的培养条件,研究其对 U(VI) 的去除效应,对促

进微生物在环境治理中具有重要意义。

笔者以铀尾矿与盐碱地等特殊环境中筛选的优势菌株、文献中具有特殊功能的菌株等为研究材料,筛选能耐受 U(VI) 的优势微生物和微生物组合,并且进一步探究在培养条件下微生物及微生物组合对 U(VI) 的去除效率,通过正交试验考察微生物组合去除 U(VI) 的最适 pH、温度、U(VI) 初始浓度。

1 材料与方法

1.1 微生物菌株 XJ1 (*Bacillus subtilis*), 芽孢杆菌属, 新疆盐碱地分离的优势菌株; 考式玫瑰菌 (*Kocuria rosea*), 考克式菌属, 若尔盖铀矿分离的优势菌株; 耐辐射奇球菌 (*Deinococcus radiodurans*), 奇球菌属, 来源于中国微生物菌种保藏中心; 柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*), 柠檬酸杆菌属, 来源于中国微生物菌种保藏中心。

1.2 微生物培养基 为了消除微生物培养基对 U(VI) 测量的影响, 选择相对于其他微生物培养基含有机成分较少的胰蛋白胨酵母葡萄糖培养基 (TGY)。其主要成分为胰蛋白胨 5.0 g、酵母粉 3.0 g、葡萄糖 1.0 g, 定容至 1 000 ml, pH 7.0~7.2。

1.3 培养条件下微生物对 U(VI) 的抗性与去除能力研究 在 100 ml 作用体系中, U(VI) 初始浓度分别为 10、30、50 mg/L, 置于 120 r/min 的恒温振荡培养箱中培养 60 h。用分光光度计在 600 nm 处测量细胞悬浮液 OD 值。每隔 12 h 取样, 8 000 r/min 振荡 5 min, 利用偶氮胂 (Ⅲ) 分光光度法在 652 nm 处测量上清液中 U(VI) 浓度。重复 3 次。微生物对 U(VI) 的去除率按下式计算:

基金项目 国防科工局项目 (14Zg6101); 国家 973 计划 (2014CB-846003)。

作者简介 刘小玲 (1988 -), 女, 四川达州人, 硕士研究生, 研究方向: 核污染修复。* 通讯作者, 教授, 硕士生导师, 从事核污染修复方面的研究。

收稿日期 2015-03-23

$$U(VI) \text{ 去除率} = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100\%$$

式中, C_1 为 U(VI) 初始浓度; C_2 为 U(VI) 残留质量浓度。

1.4 去除 U(VI) 的微生物组合筛选 将柠檬酸杆菌、耐辐射奇球菌按 1:1 比例形成微生物组合, 按 10% 接种量加入 TGY 培养基中, 使得 U(VI) 初始浓度为 30 mg/L, 置于转速为 120 r/min、温度为 30 ℃ 的恒温振荡培养箱中培养 36 h, 分析单菌株与组合菌对 U(VI) 的耐受性。

1.5 去除 U(VI) 的微生物组合培养条件优化 按接种量 10%, 柠檬酸杆菌 - 耐辐射奇球菌组合与 U(VI) 作用 36 h, 以 U(VI) 去除率为指标, 考察菌株组合去除 U(VI) 的 pH、温度、U(VI) 初始浓度。对 pH、温度、U(VI) 初始浓度 3 个相互影响因素按 $L_9(3^4)$ 进行正交试验(表 1)。每组试验 3 个平行样。

表 1 试验因素与水平

水平	因素		
	pH	温度//℃	U(VI) 初始浓度//mg/L
1	5	25	10
2	6	30	30
3	7	35	50

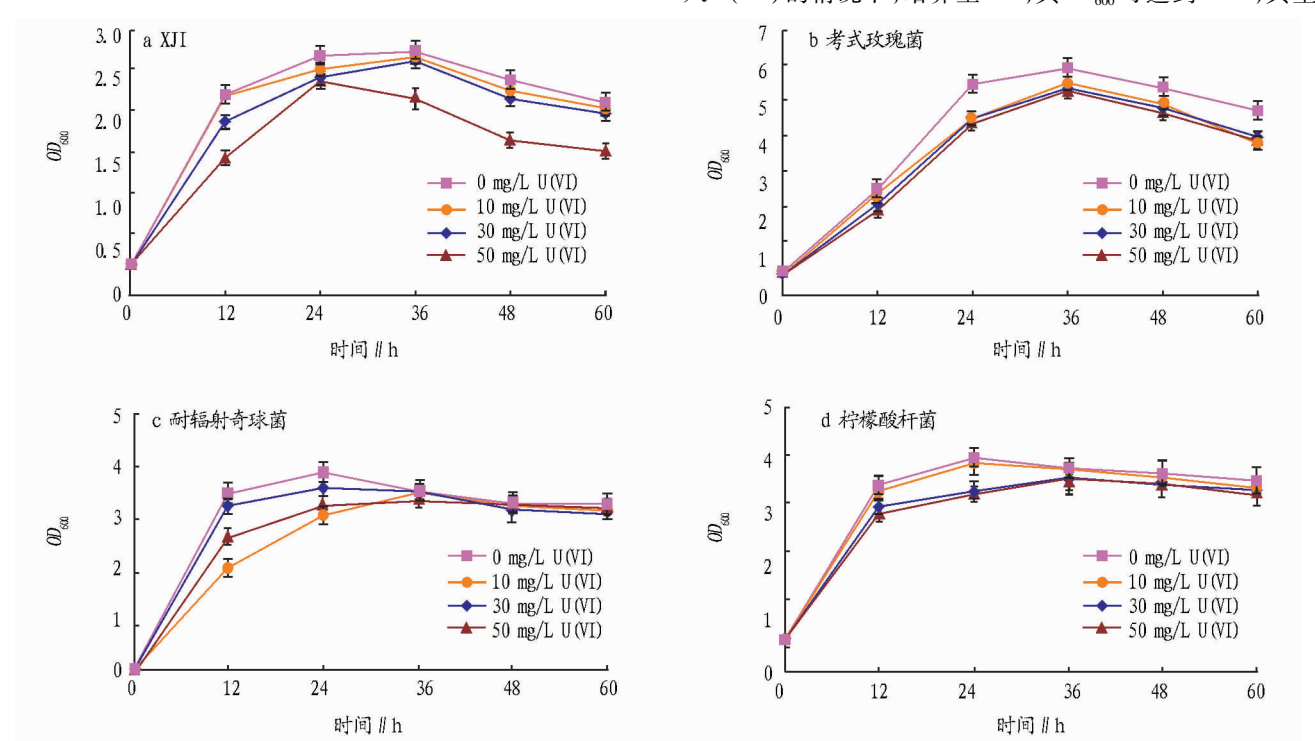


图 1 U(VI)对微生物生长的影响

长虽可达到 5.04 左右, 但生物量明显降低。这说明从铀污染区域分离的微生物相对于其他微生物具有明显的生长优势。这可能与它的生存环境相关。

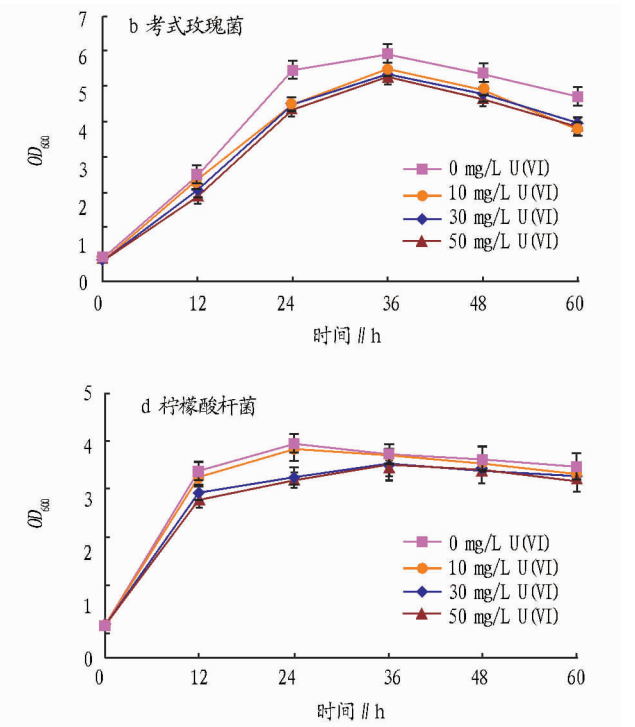
2.2 微生物对 U(VI) 的去除能力研究 在 250 ml 锥形瓶中, 加入 87 ml TGY 培养基与 10 ml OD 值为 0.8 的 XJ1、考式玫瑰菌、耐辐射奇球菌、柠檬酸杆菌菌液, 30 mg/L U(VI), 培养温度 30 ℃, 120 r/min 振荡培养箱中培养 36 h。每隔 12 h 取样, 8 000 r/min 振荡 5 min, 利用偶氮胂(Ⅲ)分光光度法在

2 结果与分析

2.1 U(VI)对微生物生长的影响 为了探索微生物对 U(VI) 的去除效应, 首先需要研究 U(VI) 对细菌的生长影响情况, 使锥形瓶中的 U(VI) 保持在 10、30、50 mg/L, 30 ℃, 120 r/min 振荡培养 60 h, 每隔 12 h 取样, 于 600 nm 处测定培养物中的细菌浓度, 分别考察微生物在 TGY 培养基中的生长情况和对不同浓度 U(VI) 的耐受性。

由图 1 可知, 在 U(VI) 的胁迫下, 菌株 OD₆₀₀ 均出现明显变化, 除考式玫瑰菌外, 其他 3 种微生物均能耐受 50 mg/L U(VI)。研究表明, 高浓度 U(VI) 对柠檬酸杆菌的生长有轻微的抑制作用, 但与 10 mg/L U(VI) 作用时明显促进该菌株的生长。柠檬酸杆菌分泌的柠檬酸可能改变原溶液中的 pH, 刺激该菌株的生长。总的说来, 柠檬酸杆菌生长受不同浓度 U(VI) 的影响较小。

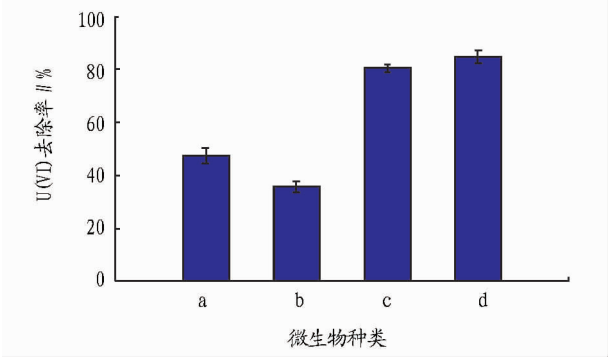
U(VI) 对耐辐射奇球菌对数生长期具有较小的影响, 但在对数期和稳定期影响不明显。陈立等^[10] 指出, 耐辐射奇球菌对核素的抗性机制归因于 DNA 损伤的高效修复能力、对活性氧自由基的有效清除能力、自身特殊的基因结构与生存方式 3 个方面。考式玫瑰菌 OD₆₀₀ 均低于对照组, 在未加入 U(VI) 的情况下, 培养至 36h, 其 OD₆₀₀ 可达到 5.97, 其生



652 nm 处测量上清液中 U(VI) 的浓度。每组试验重复 3 次。

由图 2 所知, 耐辐射奇球菌、柠檬酸杆菌对 U(VI) 有显著的去除效应, 对 U(VI) 的去除率分别达到 80.4%、84.8%, 而 XJ1、考式玫瑰菌对 U(VI) 的去除率仅分别为 47.6%、35.7%。

柠檬酸杆菌为兼性厌氧菌, 直杆状, 表面光滑, 无荚膜, 直径约为 1.0 μm, 革兰氏阴性菌。Xie 等^[11] 研究表明, 柠檬酸杆菌对 U(VI) 的吸附量可达 9 000 mg/g, 但研究中当 U(VI) 浓度



注:a. XJ1, b. 考式玫瑰菌, c. 耐辐射奇球菌, d. 柠檬酸杆菌。

图2 不同微生物对 U(VI) 的去除率

为 30 mg/L 时柠檬酸杆菌对 U(VI) 的去除率可达 84.8%。由此可知,柠檬酸杆菌适合处理低浓度含铀废水^[12]。

耐辐射奇球菌为兼性厌氧菌,球状,能产生粉红色色素,革兰氏阳性菌,具有四分体结构。研究中,耐辐射奇球菌对 30 mg/L U(VI) 的去除率可达到 80.4%。与邓钦文等^[6]运用耐辐射奇球菌菌体在优化条件下对 50 mg/L U(VI) 的去除率达 92.3% 相比,去除率稍低,可能是利用活体微生物去除 U(VI) 的缘故。相关报道也指出,一些重金属抗性基因已在耐辐射奇球菌中表达^[13-16]。

2.3 单菌株与混合菌株对 U(VI) 的耐受性比较 将筛选得到的两种优势菌株按 1:1 比例建立对 U(VI) 作用的高效组合,设定柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌组合,考察单菌株与混合菌株对 U(VI) 的耐受性。

由图 3 可知,柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌组合对 30 mg/L U(VI) 的抗性明显增加,其生长趋势相对于两单菌株均有增强,说明它为有效组合。由此可知,菌株的生长与 U(VI) 的去除率保持某种线性关系。因此,推测柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌组合能提升 U(VI) 的去除效果。

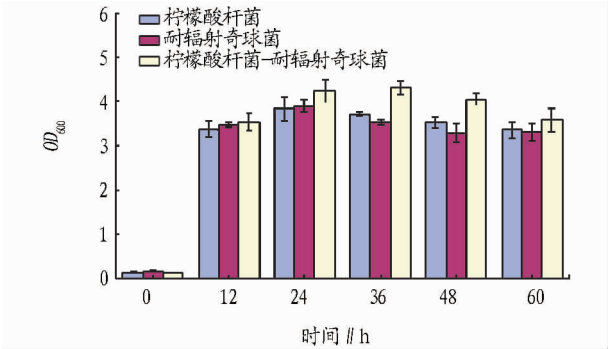


图3 单一菌和组合菌对 U(VI) 的耐受性比较

2.4 去除 U(VI) 的柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌的正交试验结果分析 影响微生物生长和去除 U(VI) 的因素较多。试验中,着重考察 pH、温度、U(VI) 初始浓度对去除 U(VI) 的影响。

由表 2 可知,柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌组合去除 U(VI) 的最佳条件为:pH 6.0、温度 30 ℃、U(VI) 初始浓度 10 mg/L。各因素对柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌去除 U(VI) 的影响顺序为 pH > 温度 > U(VI) 初始浓度。pH 相对于温度和

U(VI) 初始浓度对微生物组合去除 U(VI) 的影响较大。

表2 柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌的正交试验结果

试验号	因素				去除率/%
	A (pH)	B (温度) /℃	C (U(VI) 初始浓度) /mg/L	D (空列)	
1	1	1	1	1	88.2
2	1	2	2	2	93.7
3	1	3	3	3	92.1
4	2	1	2	3	95.5
5	2	2	3	1	94.8
6	2	3	1	2	95.7
7	3	1	3	2	92.4
8	3	2	1	3	98.3
9	3	3	2	1	92.2
K_1	274.0	281.3	282.2		
K_2	286.0	286.8	281.4		
K_3	282.9	280.0	279.3		
k_1	91.3	93.8	94.1		
k_2	95.3	95.6	93.8		
k_3	94.2	93.3	93.1		
极差 R	4.0	2.3	1.0		
主次顺序	A > B > C				
优水平	A_2	B_2	C_1		
优组合	$A_2B_2C_1$				

对比微生物组合对 U(VI) 的去除率,温度较之于 U(VI) 初始浓度对微生物组合去除 U(VI) 的影响较大。正交试验中,温度 30 ℃ 为去除 U(VI) 的最适温度,推测温度可能影响细胞上金属吸附位点和增加吸附位点与金属离子的亲和力,或为金属离子在细胞内主动运输提供能量而提升去除效率^[17]。U(VI) 初始浓度对组合菌去除 U(VI) 的影响较小。这可能是由于试验中 U(VI) 浓度较小。

3 结论

在 U(VI) 的胁迫下,筛选出 3 种耐受 U(VI) 的微生物,分别是 XJ1、耐辐射奇球菌、柠檬酸杆菌,且均能耐受 50 mg/L U(VI)。研究表明,耐辐射奇球菌与柠檬酸杆菌对 U(VI) 有显著的去除能力,去除率分别达到 80.4%、84.8%,而其他 2 种微生物则对 U(VI) 的去除能力不强。

运用单菌株和菌株组合的耐受性比较分析,构建了柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌组合,再通过三因素三水平优化柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌去除 U(VI) 的 pH、温度、U(VI) 初始浓度。结果表明,在最佳条件(pH 6.0、温度 30 ℃、U(VI) 初始浓度 10 mg/L) 下,柠檬酸杆菌-耐辐射奇球菌组合对 U(VI) 的去除率可达到 98.3%。

参考文献

[1] PRAT O, BERENQUER F, STEINMETZ G, et al. Alterations in gene expression in cultured human cells after acute exposure to uranium salt: Involvement of a mineralization regulator[J]. Toxicology in Vitro, 2010, 24 (1): 160-168.

[2] TAWFIK Z, ABU-SHADY M, HAYTHAM M. Uranium uptake by some locally isolated and some reference bacterial species[J]. Acta Pharmaceutica, 2005, 55(1): 93-105.

[3] 方迪, 王方, 单红仙, 等. 硫酸盐还原菌对酸性废水中重金属的生物沉淀作用研究[J]. 生态环境学报, 2010, 19(3): 562-565.

- [4] 杨晶. 柠檬酸杆菌吸附重金属镉的研究[J]. 水处理技术, 2009(5): 64-66.
- [5] 张花香, 宋金秋, 吴莎莉. 蜡样芽孢杆菌对重金属离子的耐受性及其芽孢吸附能力的研究[J]. 华中师范大学研究生学报, 2005(4): 40.
- [6] 邓钦文, 丁德馨, 刘冬, 等. 耐辐射奇球菌对水中铀(VI)的吸附试验[J]. 金属矿山, 2014, 43(1): 150-153.
- [7] 杨晶, 谢水波, 王清良, 等. 微生物吸附铀的机理研究现状[J]. 铀矿冶, 2006, 25(4): 192-195.
- [8] HINOJOSA M B, CARREIRA J A, GARCÍA-RUÍZ R, et al. Microbial response to heavy metal-polluted soils[J]. Journal of Environmental Quality, 2005, 34(5): 1789-1800.
- [9] 张伟, 董发勤, 代群威. 微生物富集铀[J]. 铀矿冶, 2006, 24(4): 198-202.
- [10] 陈立, 董俊兴. 耐辐射奇球菌抗辐射作用的研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 2008(4): 24.
- [11] XIE S, YANG J, CHEN C, et al. Study on biosorption kinetics and ther-

- modynamics of uranium by *Citrobacter freundii*[J]. Journal of Environmental Radioactivity, 2008, 99(1): 126-133.
- [12] 王建龙, 韩英健, 钱易. 微生物吸附金属离子的研究进展[J]. 微生物学通报, 2000, 27(6): 449-452.
- [13] 孙晓宇, 李斌元, 马云, 等. 耐辐射奇球菌的辐射损伤修复机制研究进展[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2012, 30(2): 71-75.
- [14] 周绪斌, 邢瑞云, 吕星. 耐辐射奇球菌在放射性环境中的生物修复作用[J]. 微生物学通报, 2004, 31(1): 118-122.
- [15] 华跃进, 高冠军. 耐辐射异常球菌 DNA 损伤与修复相关基因的比较基因组研究[J]. 微生物学报, 2003, 43(1): 120-126.
- [16] 赵清, 舒为群. 耐辐射球菌抗辐射机制研究进展及其环境修复应用前景[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(4): 578-584.
- [17] ANIRUDHAN T S, SREEKUMARI S S. Synthesis and characterization of a functionalized graft copolymer of densified cellulose for the extraction of uranium (VI) from aqueous solutions[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2010, 361(1): 180-186.

(上接第 79 页)

- [3] 国家技术监督局. GB/T 6274-1997, 肥料和土壤调理剂术语[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [4] 孙菊峰. 几种矿物源土壤调理剂对土壤养分、酶活性及生物特性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [5] 王小彬, 蔡典雄. 土壤调理剂 PAM 的农用研究和应用[J]. 植物营养与肥料学报, 2000, 6(4): 457-463.
- [6] 川岛和夫, 姚德兴. 农用土壤改良剂——新型保水剂[J]. 土壤学进展, 1986(3): 49-52.
- [7] 陈义群, 董元华. 土壤改良剂的研究与应用进展[J]. 生态环境, 2008, 17(3): 1282-1289.
- [8] HUANG Q H, LI D M, LIU K L, et al. Effects of long-term organic amendments on soil organic carbon in a paddy field: A case study on red soil[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2014, 13(3): 570-576.
- [9] HUANG M, YANG L, QIN H D. Quantifying the effect of biochar amendment on soil quality and crop productivity in Chinese rice paddies[J]. Field Crops Research, 2013, 154: 172-177.
- [10] 张则有, 王荣力, 王质安, 等. 泥炭在农业上的开发技术与应用[J]. 腐植酸, 2001(1): 50-55.
- [11] 尤晶, 李永胜, 朱国鹏, 等. 保水剂农业应用研究现状与展望[J]. 广东农业科学, 2012(12): 76-79.
- [12] 刘慧君. 土壤改良剂对旱作燕麦及特性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012: 29-30.
- [13] LUCAS S T, D'ANGELO E M, WILLIAMS M A. Improving soil structure by promoting fungal abundance with organic soil amendments[J]. Applied Soil Ecology, 2014, 75: 13-23.
- [14] 朱高洪, 毛锋. 我国水土流失影响辨识与直接经济损失评估[J]. 中国水土保持, 2007(8): 4-6.
- [15] 朱咏莉, 刘军, 王益权. 国内外土壤结构改良剂的研究利用综述[J]. 水土保持学报, 2001, 15(6): 140-142.
- [16] 于健, 雷廷武. PAM 特性对砂壤土入渗及土壤侵蚀的影响[J]. 土壤学报, 2011, 48(1): 21-26.
- [17] 何熙, 张玉涛, 李佳佳, 等. 秸秆-膨润土-PAM 改良材料对不同类型土壤田间持水能力的影响[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2012, 34(11): 76-78.
- [18] 黄耀容, 王强锋, 朱彭玲, 等. 土壤改良剂对酸性土壤改良的影响[J]. 西南农业学报, 2014(4): 1637-1640.
- [19] 董稳军, 许培智, 张仁陟. 土壤改良剂对冷浸田土壤特性和水稻群体质量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(7): 810-816.
- [20] 魏岚, 杨少海, 邹献中. 不同土壤调理剂对酸性土壤的改良效果[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2010, 36(1): 77-81.
- [21] 纪立东, 杨建国. BGA 土壤调理剂对盐渍化土壤和枸杞生长发育的影响[J]. 宁夏大学学报: 自然科学版, 2012, 33(3): 293-297.
- [22] 王元, 王有国, 白小明. YNEC 土壤改良剂对盐胁迫下早熟禾生理特征的影响[J]. 北方园艺, 2013(1): 146-150.
- [23] 宋伟, 陈百明. 中国耕地土壤重金属污染概况[J]. 水土保持研究,

2012, 20(2): 293-297.

- [24] MULE P, MELIS P. Methods for remediation of metal-contaminated soils: Preliminary results[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2000, 31(3): 193-204.
- [25] ROMÁN R, FORTUN C, SÁ G L D, ALMENDROS G. Successful soil remediation and reforestation of a calcic regosol amended with composted urban waste[J]. Arid Land Research and Management, 2003, 17: 297-311.
- [26] 王意锟, 郝秀珍, 周东美. 改良剂施用对重金属污染土壤溶液化学性质及豇豆生理特性的影响研究[J]. 土壤, 2011, 43(1): 89-94.
- [27] ZHOU H, ZHOU X, ZENG M. Effects of combined amendments on heavy metal accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) planted on contaminated paddy soil[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, 101: 226-232.
- [28] BEESLEY L, INNEH B O S, NORTON G J. Assessing the influence of compost and biochar amendments on the mobility and toxicity of metals and arsenic in a naturally contaminated mine soil[J]. Environmental Pollution, 2014, 186: 195-202.
- [29] LIJBERT BRUSSAARD. 土壤中的生物多样性与生态系统功能[J]. AMBIO-人类环境杂志, 1997(8): 555-562.
- [30] CHEN J H, LIU X Y, ZHENG J W. Biochar soil amendment increased bacterial but decreased fungal gene abundance with shifts in community structure in a slightly acid rice paddy from Southwest China[J]. Applied Soil Ecology, 2013, 71: 33-44.
- [31] 薛超群, 王建伟, 奚家勤. Agri 土壤调理剂用量对烟叶香气质量的影响[J]. 烟草科技, 2012(7): 171-175.
- [32] 刘素云, 王旭刚, 董晓兵. 3 种改良剂对烟叶微量元素含量和品质的影响[J]. 河南科技大学学报: 自然科学版, 2012, 33(6): 135-142.
- [33] 任胜超. 土壤改良剂对白肋烟生理特性和品质性状的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2012: 23-24.
- [34] 张宾宾. 新型环保土壤改良剂沙地施用效果研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2012: 39-63.
- [35] 孙文哲, 任振江, 赵建. 土壤改良剂在园林绿化中的应用[J]. 城市绿化科技, 2011(3): 61-63.
- [36] 周红梅, 段成鼎, 孙菊峰, 等. 5 种土壤调理剂对大蒜田土壤理化性质和大蒜产量的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2013(3): 26-30.
- [37] 张文俊, 付小花, 乐毅全, 等. 土壤改良剂: 固体废弃物处置与资源化的有效途径[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(32): 14281-14286.
- [38] 梁师英, 赵锦慧, 李海燕. 电厂粉煤灰作为碱性土壤改良剂的风险分析[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(34): 16945-16947.
- [39] 许晓平, 汪有科, 冯浩, 等. 土壤改良剂改土培肥增产效应研究综述[J]. 中国农学通报, 2007, 23(9): 331-333.
- [40] 王旭. 肥料和土壤调理剂评价研究进展[Z]. 国家化肥质量监督检验中心, 2013.