

DOI: 10.5846/stxb201806281420

王姣龙, 谌小勇, 闫文德. 低分子有机酸对土壤中菲降解及细菌群落结构的影响. 生态学报, 2019, 39(19): - .
Wang J L, Chen X Y, Yan W D. Effects of low-molecular-weight organic acids on the degradation of phenanthrene and bacterial community structure in soil. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(19): - .

低分子有机酸对土壤中菲降解及细菌群落结构的影响

王姣龙¹, 谌小勇^{1,2,4}, 闫文德^{1,2,3,*}

1 中南林业科技大学, 长沙 410004

2 南方林业生态应用技术国家工程实验室, 长沙 410004

3 城市森林生态湖南省重点实验室, 长沙 410004

4 州长州立大学, 美国伊利诺伊州 IL 60484

摘要:多环芳烃是一类普遍存在于环境中的持久性有机污染物,其通过食物链进入生态系统,直接危害人类健康和整个生态系统的安全。为探讨低分子有机酸对土壤中菲降解及细菌群落结构的影响,通过室内培养的方式研究了在添加不同种类有机酸处理下第 0—180 天土壤中菲含量的变化状况,并采用高通量 Illumina Miseq 技术分析了土壤细菌群落种类和数量的变化特征。结果表明,低分子有机酸对于土壤中菲的降解有明显的促进作用,由一级动力学方程得出乙酸对菲降解的促进作用最明显。从细菌群落结构来看,土壤细菌的数量及其多样性或许不是导致土壤菲降解的主要因素,反而特定的非降解菌的丰度对菲降解有重要影响。添加低分子有机酸减少了细菌 OTU 数及细菌菌群多样性,但增加了 PAHs 降解菌的丰度。随着时间推移细菌总 OTU 数呈现下降趋势,独有种类数均呈现出先增长后下降的趋势。检测到了 6 种典型的非降解菌,分别为: *Bacillus*、鞘氨醇单胞菌属、*Massilia*、*Azospirillum*、*Burkholderia-paraburkholderia*、红球菌。研究结果可为多环芳烃污染土壤的植物修复提供基础数据和科学参考。

关键词:菲;土壤;低分子有机酸;细菌;群落结构

Effects of low-molecular-weight organic acids on the degradation of phenanthrene and bacterial community structure in soil

WANG Jiaolong¹, CHEN Xiaoyong^{1,2,4}, YAN Wende^{1,2,3,*}

1 Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

2 National Engineering Laboratory for Applied Technology of Forestry and Ecology in South China, Changsha 410004, China

3 Provincial Key Laboratory for Urban Forest Ecology, Changsha 410004, China

4 College of Arts and Sciences, Governors State University, University Park, IL 60484, USA

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are common persistent organic environmental pollutants, which enter the ecosystem through the food chain and directly endanger human health and the safety of the entire ecosystem. To investigate effects of low-molecular-weight organic acids on degradation of phenanthrene and bacterial community structure in soil, changes in soil phenanthrene content during 0—180 d after addition of different organic acids were assessed via variations in indoor culture characteristics of soil bacterial community types and quantities via high-throughput Illumina Miseq. Consequently, addition of low-molecular-weight organic acids significantly promoted phenanthrene degradation in soil, and the first-order reaction kinetics revealed that acetic acid had the most significant effect on phenanthrene degradation. Considering the bacterial community structure, addition of low-molecular-weight organic acids reduced the

基金项目:国家科技支撑计划子项目(2015BAD07B0503);林业科学技术推广项目([2017]12号);城市森林生态湖南省重点实验室资助;湖南省科技计划项目(2015SK2002)

收稿日期:2018-06-28; 网络出版日期:2019-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: csfuywd@hotmail.com

number of operational taxonomic units (OTUs) and the diversity of bacterial flora but increased the abundance of PAH-degrading bacteria. The total number of bacterial OTUs displayed a decreasing trend with time, and the number of unique species initially displayed an increasing trend, followed by a decreasing trend. Six typical phenanthrene-degrading bacteria were detected: *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Massilia*, *Azospirillum*, *Paraburkholderia*, and *Rhodococcus*. These results provide a basis and a scientific reference for phytoremediation of PAHs contaminating soil.

Key Words: phenanthrene; soil; low-molecular-weight organic acids; bacteria; community structure

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是一类广泛存在于环境中的具有致癌、致畸、致突变性的持久性有机污染物,主要来源于人类活动,例如汽车尾气、化石燃料不完全燃烧等^[1],可通过大气、水体、土壤和植物间的传输和交换而在整个环境中分布,并经过食物链进入动物体和人体,直接威胁包括人类在内的生命有机体的健康和安全^[2]。因此,揭示 PAHs 在环境中的动态机制,加快对 PAHs 的清除速度,对于环境质量改善和国土安全具有重要的现实意义。

添加模拟根系分泌物是一项很有发展前途的新型的 PAHs 污染土壤的生物修复技术,其原理是通过调节和改变土壤微生物群落的结构和活性促进 PAHs 的降解^[3]。微生物降解土壤中的 PAHs 一般有两种方式,一种是以 PAHs 为唯一碳源和能源;另一种是将 PAHs 与其他有机质进行共代谢作用。据报道^[4],根系分泌物中的一些低分子有机酸,比如琥珀酸和苹果酸能够有效促进吸附在土壤上的菲和芘的解吸,提高土壤中 PAHs 的有效性,从而加快 PAHs 的降解。土壤中有机质含量越低,解吸作用越明显。且不同分子量的外加碳源组分均在一定程度上缩短细菌对芘进入快速降解期的时间^[5]。不同低分子有机酸对 PAHs 降解的影响作用不同,Wei 等^[6]发现在液体培养下,丁酸对混合 PAHs(芘、菲、芘)降解效果优于苹果酸和柠檬酸,其主要是极性较弱的丁酸可优化表面疏水性较强的分支杆菌与疏水性 PAHs 的接触。

在我们前期的研究中发现,植物根系分泌物种类繁多。在 PAHs 胁迫下,根系分泌物中的物质组成发生改变^[7-8]。作为利用植物根系分泌物对 PAHs 污染土壤修复技术研究项目的一部分,本研究通过高通量 Illumina Miseq 技术,重点研究根系分泌物中低分子有机酸对土壤中菲的降解过程,并探讨添加低分子有机酸后菲污染土壤中细菌群落种类和数量的变化特征,揭示植物根系分泌物对 PAHs 污染土壤中微生物群落结构的影响,以期为进一步研发 PAHs 污染环境下的植物-微生物联合修复技术提供科学参考。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试土壤采自于中南林业科技大学校园东园苗圃表层土壤(0—20 cm)。将供试土壤检出根系、石块等残留物,自然风干后过 2 mm 筛子。采用酸度计测定土壤的 pH 值(水土比 5:1);采用岛津总有机碳测定仪测定土壤总有机碳含量,采用凯氏蒸馏法测定土壤全 N 含量,采用硫酸-高氯酸消煮法测定土壤全 P 含量。经测定,供试土壤的基本理化性质:土壤 pH 值为 5.40,土壤总有机碳含量为 5.02 g/kg,土壤全 N 含量为 0.13 g/kg,土壤全 P 含量为 0.22 g/kg。

菲污染土壤的制备:选用菲(>97%,购于 Sigma-AldrichCo.)作为供试污染源,菲是 PAHs 中 3 个苯环的代表物,在环境中广泛存在,是检测 PAH 污染的指示物。将菲溶于丙酮后倒入供试土壤中均匀混合,制得 2000 mg/kg 水平的菲污染土壤,置于钵中平衡 7 d 后备用。

取 500 g 菲污染土壤盛装于 500 ml 烧杯中,烧杯外壁裹上锡箔纸,模拟土壤黑暗状态,分别加入 30 ml 0.16 mol/L 乙酸、柠檬酸、酒石酸、草酸、混合有机酸(乙酸、柠檬酸、酒石酸及草酸的混合液)溶液,搅拌均匀后放置在温室中,贴好标签。同时设置对照处理,即在 500 g 污染土壤的烧杯中加入 30 ml 的去离子水,形成 6 种不同的处理:对照处理(K)、乙酸处理(Y)、柠檬酸处理(N)、酒石酸处理(J)、草酸处理(C)、混合有机酸处理(H)。每

个处理有 3 个重复。实验历时 180 天,实验期间烧杯随意摆放,每月将烧杯位置随机移动一次,尽量使每个烧杯的微环境保持一致,室内温度因开窗对流基本与环境温度保持一致。实验分别于 0、60、90、180 d 后,采样。

1.2 研究方法

土壤中菲的提取和净化:取 5 g 制备好的土壤样品于聚乙烯杯中,加入 50 mL 甲醇后,震荡 5 min,超声 20 min,4000 r/min 离心 25 min,取上清液过 0.45 μm 孔径聚丙烯纤维滤膜,将稀释液过 SPE 萃取柱,10 mL 乙腈洗脱,取 1 mL 洗脱液过 0.45 μm 孔径滤膜后上气质联用仪分析。

气质联用仪测定条件:流量 1 mL/min,进样口温度 230 $^{\circ}\text{C}$,接口温度 280,60 $^{\circ}\text{C}$ \rightarrow 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 100 $^{\circ}\text{C}$ (5 min) \rightarrow 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 210 $^{\circ}\text{C}$ (3 min) \rightarrow 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 290 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)。

色谱柱为 HP-5 毛细管色谱柱 30 m \times 0.25 mm。不分流进样,气化温度 280 $^{\circ}\text{C}$,载气为高纯 He。

细菌 16S rRNA 基因高通量测序^[9]:测序由上海美吉生物工程技术有限公司完成,采用 Illumina Miseq 系统进行双向测序,采用引物 515 F 和 907 R 扩增细菌 16S rRNA 基因片段。测序所得结果,采用 prinseq 软件对 reads1、reads2 的 3 端进行质控,截掉质量低的数据,以提高后续序列融合比率。通过 Flash 软件融合双末端序列,使其形成一条序列。采用 prinseq 软件对各个样品进行去引物序列、短片段、低复杂度序列、低质量序列。

1.3 数据分析

数据输入整理及作图采用 Excel 2010 软件;采用 SPSS 18.0 对土壤理化数据进行方差分析、多重比较,使用 R 语言分析微生物多样性数据。

2 结果与分析

2.1 不同处理下土壤中菲的降解过程

由图 1 可知,随着时间的推移,对照组土壤中菲会自然降解,添加低分子有机酸对土壤中菲的降解有一定的促进作用,第 0 天土壤中菲含量均为 571.46 mg/kg,第 60 天,菲含量降到了:210.70—340.39 mg/kg,降解率为:乙酸(63.13%)>柠檬酸(49.30%)>草酸(49.27%)>酒石酸(49.13%)>混合有机酸(43.28%)>对照(40.44%);第 90 天,菲含量为:208.65—321.55mg/kg,降解率为:乙酸(63.49%)>柠檬酸(53.96%)>混合有机酸(51.83%)>草酸(51.72%)>酒石酸(50.45%)>对照(43.73%)。第 180 天,菲含量为:175.28—306.07 mg/kg,降解率分别为:乙酸(69.33%)>混合有机酸(57.41%)>草酸(56.15%)>柠檬酸(54.98%)>酒石酸(52.30%)>对照(46.44%)。用一级动力学方程对不同

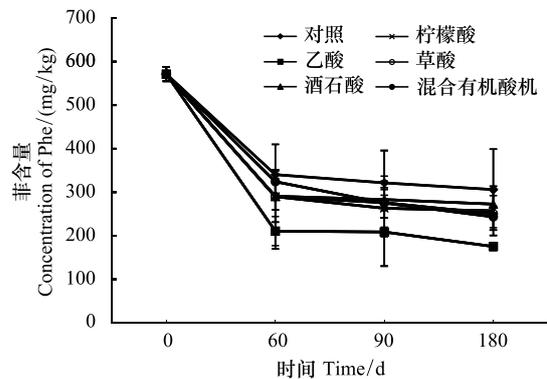


图 1 不同处理水平下土壤中菲降解

Fig.1 Degradation of Phenanthrene in soil at different levels

处理下菲降解过程进行了拟合(表 1),结果表明,相较于对照,添加低分子有机酸的组分动力学常数增大,半衰期缩短,由动力学常数得出乙酸对菲降解的促进作用最为明显。

表 1 不同处理水平下菲的一级降解动力学方程

Table 1 Degradation dynamics equation of phenanthrene at different treatment levels

处理方式 Treatment	动力学方程 Degradation dynamics equation	R^2	$t^{1/2}$ (d)	处理方式 Treatment	动力学方程 Degradation dynamics equation	R^2	$t^{1/2}$ (d)
K	$C = C_0 e^{-0.00443 t}$	0.50419	156.43	J	$C = C_0 e^{-0.00576 t}$	0.45601	120.31
Y	$C = C_0 e^{-0.00824 t}$	0.52193	84.10	C	$C = C_0 e^{-0.00577 t}$	0.53045	120.10
N	$C = C_0 e^{-0.00537 t}$	0.40388	129.05	H	$C = C_0 e^{-0.00575 t}$	0.70121	120.52

2.2 菌群群落结构组成

18 个土壤样品中细菌分布在 12 个门, 24 个纲, 42 个目, 50 个科, 61 个属, 61 个种。序列中不能识别的分在其他组中。

在门分类水平下(图 2 示), 6 个处理中, 变形菌门、厚壁菌门、酸杆菌门、放线菌门、绿弯菌门、浮霉菌门、芽单胞菌门、拟杆菌门、装甲菌门、GAL15、硝化螺旋菌门、latescibacteria 为优势门类, 丰度占比 90% 以上。变形菌门是细菌中最大的一门, 包括了假单胞菌属、产碱杆菌属等多种环芳烃降解菌属, 所有处理中变形菌门丰度均为最大, 占有组细菌门类的 70.39%, 添加低分子有机酸的组分中变形菌门丰度明显高于对照组, 其中乙酸组变形菌门丰度占比在第 60 天(71.57%) 和第 180 天(93.46%) 时最大, 混合有机酸占比在第 90 天(93.7%) 时最大(图 3 示)。

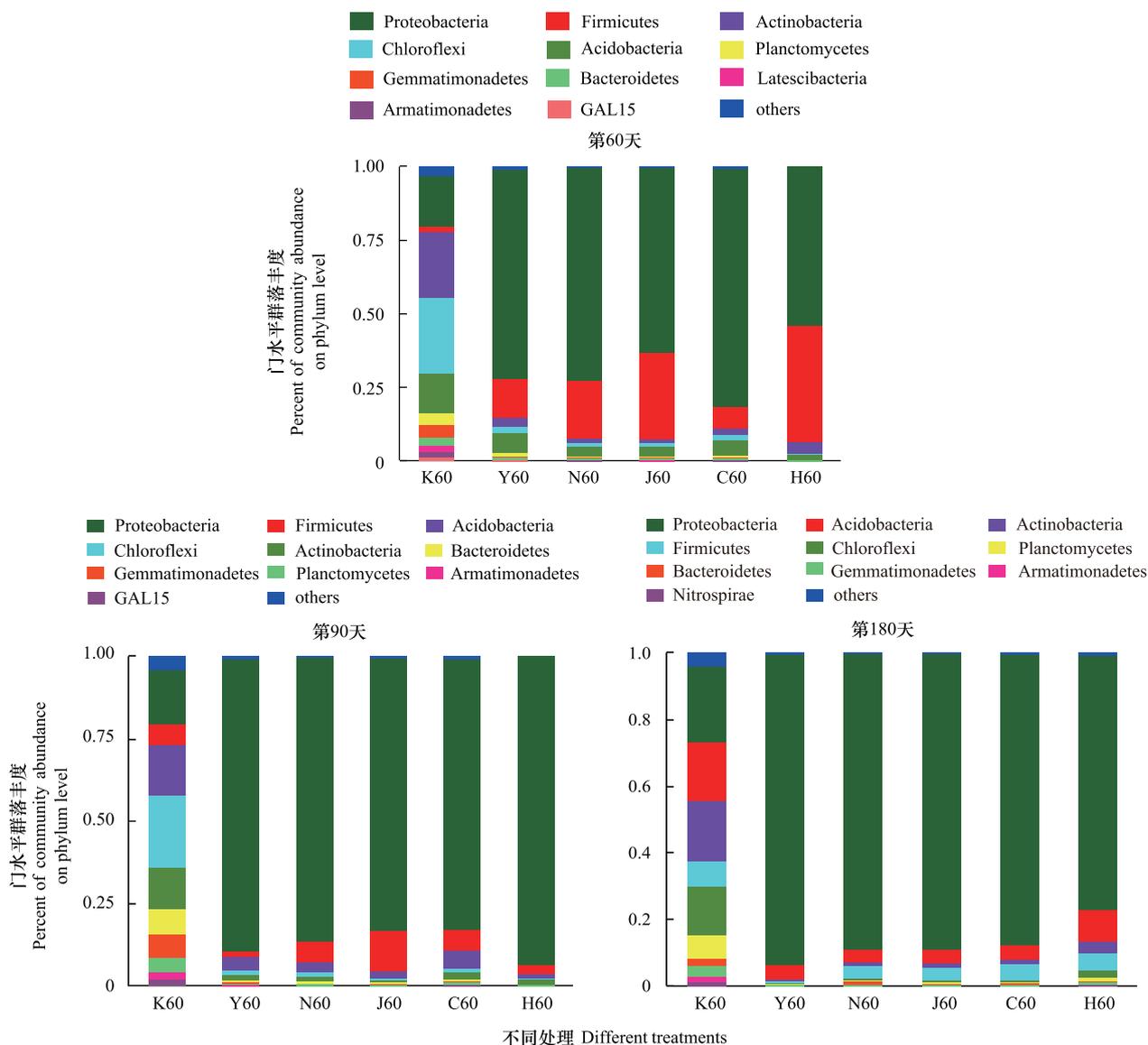


图 2 门水平细菌群落结构分布

Fig.2 Bacteria community structure and distribution at phylum level

在属分类水平下(图 4 示), 6 个处理中, 产黄杆菌属 (*Rhodanobacter*)、Firmicutes、Acidobacteria、Chloroflexi、Actinobacteria、Bacteroidetes、Gemmatimonadetes、Planctomycetes、Armatimonadetes、GAL15 为优势菌属, 丰度占比 90% 以上。以丰度占比最大的产黄杆菌属为例, 产黄杆菌属具有一定的多环芳烃降解能力^[10], 添加低分子有

机酸的组分中产黄杆菌属丰度明显高于对照组(图4示),第60天时柠檬酸组丰度占比(30.69%)最大,第90天时酒石酸组最大(49.37%),第180天时乙酸组最大(41.22%)。在第60天、第90天及第180天还检测到了5种典型的非降解菌,分别为:*Bacillus*^[11]、鞘氨醇单胞菌属^[12]、*Massilia*^[13]、*Azospirillum*^[14]、*Burkholderia-paraburkholderia*^[15]。5种典型非降解菌均呈现出添加低分子有机酸组丰度占比高于对照组,且随时间推移丰度占比升高。在第60天和第180天检测到了一种 PAHs 降解菌红球菌^[11]。

2.3 菌群丰度变化和多样性分析

OTU 数是通过聚类操作得到的具有相似性的序列小组,可代表物种数目。由表2知,共检测到648795条有效序列和565127个OTU。不同处理之间,OTU数量存在较大差异,第60天,对照组中OTU数明显高于其他组,排序为对照>混合有机酸>乙酸>草酸>酒石酸>柠檬酸;第90天,排序为:草酸>柠檬酸>对照>乙酸>酒石酸>混合有机酸;第180天,对照>乙酸>混合有机酸>柠檬酸>草酸>酒石酸。不同采样时间之间也存在差异,随着时间推移土壤中总OTU数呈现下降趋势,分别为:60天(OTU总数为197084)>90天(184663)>180天(183380)。

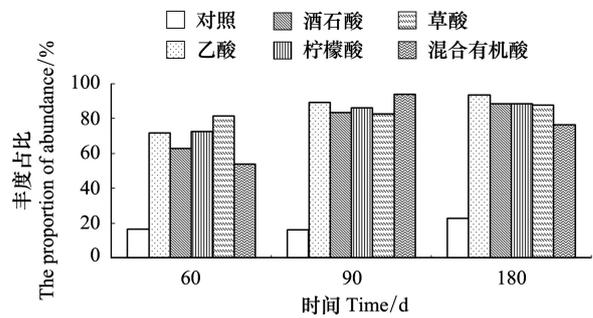


图3 不同时期变形菌门丰度分布图

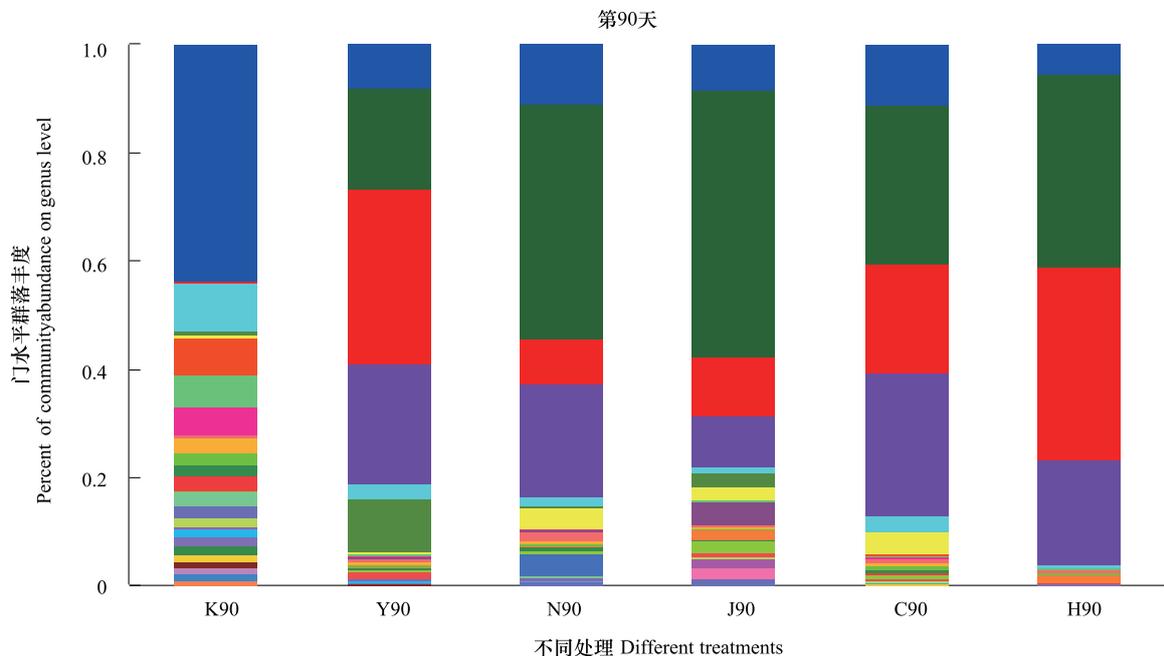
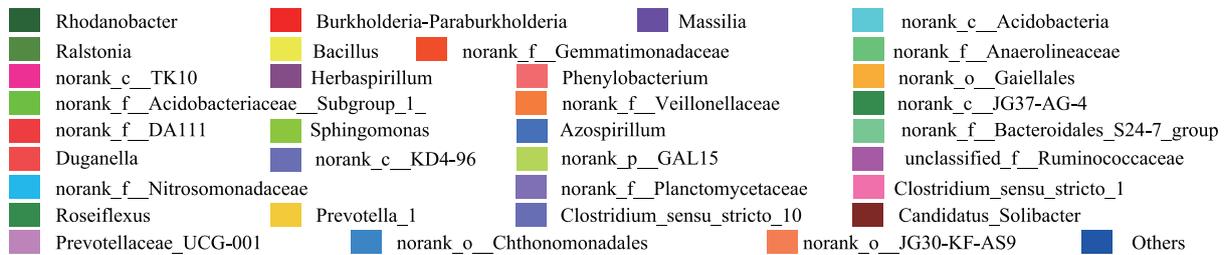
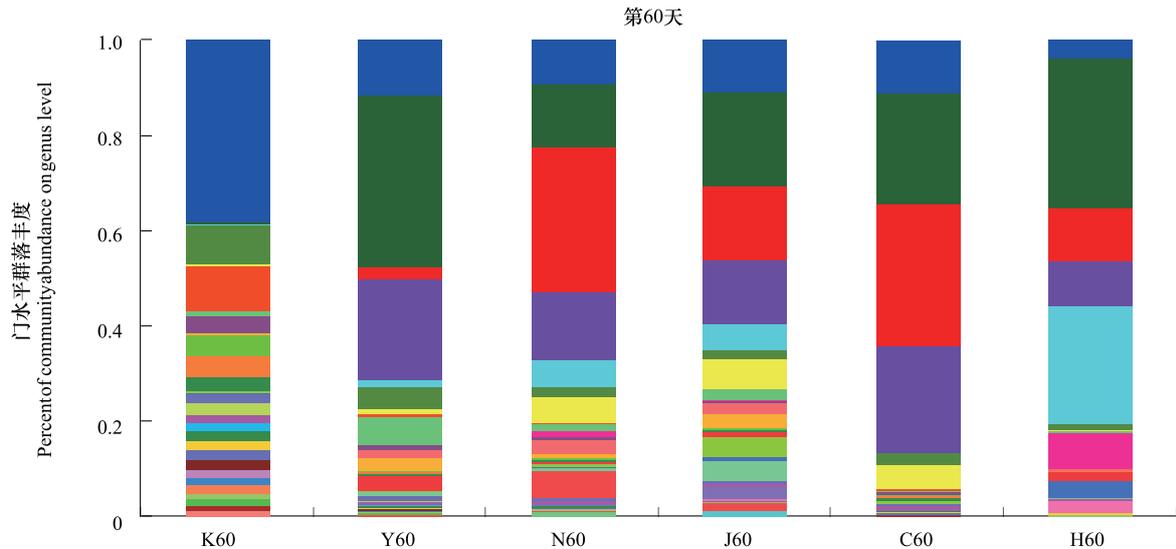
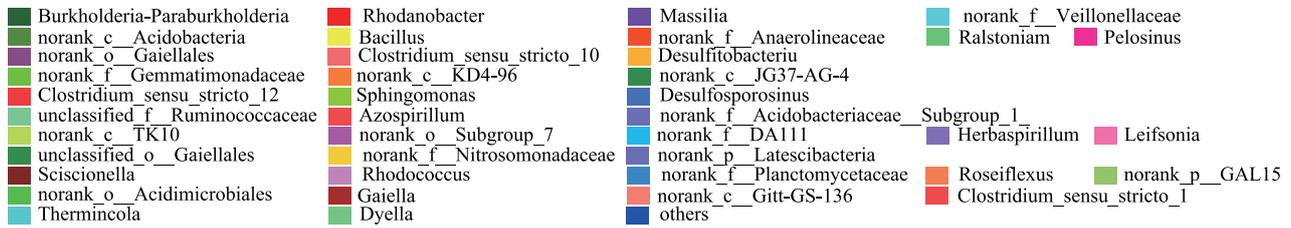
Fig.3 Distribution of Proteobacteria abundance at different stages

表2 不同处理水平下的测序结果和丰度变化

Table 2 Sequencing results and diversity estimates at different levels

取样时间 Time	处理 Treatment	测序结果 Results			多样性指数 Diversity Index			
		序列数 Total read number	总 OTU 数 Total OTU number	ace 指数 Ace Index	Chao 指数 Chao Index	香农指数 Shannon Index	辛普森指数 Simpson Index	
60d	K60	41281	38235	2351.61	2343.646	6.320506	0.005695	
	Y60	39253	34407	1589.585	1572.524	3.439792	0.137183	
	N60	31619	26946	1397.051	1112.545	3.072053	0.135864	
	J60	34420	28855	1476.837	1167.307	3.547076	0.07068	
	C60	39437	34182	1709.064	1398.094	2.897736	0.156958	
	H60	36076	34459	1445.435	1059.227	2.46095	0.166347	
90d	K90	36970	33534	2629.383	2672.319	6.512102	0.004918	
	Y90	32332	28144	1323.934	1043.448	2.19667	0.21902	
	N90	43802	34977	1025.993	852.5357	2.485948	0.196122	
	J90	32999	26762	1182.697	942.2959	2.804896	0.189591	
	C90	40820	35185	1311.553	1104.931	2.587436	0.202534	
	H90	31285	26061	1335.057	1088.627	2.748335	0.211673	
180d	K180	40155	34361	2304.729	2324.651	6.76897	0.002528	
	Y180	36335	31073	1112.445	796.125	1.974045	0.271677	
	N180	34835	30775	1074.061	832.1667	2.474749	0.220456	
	J180	31485	27615	856.4815	848.4054	2.65509	0.174387	
	C180	31583	28687	1118.855	914.7593	2.290502	0.253128	
	H180	34108	30869	1057.25	1023.333	3.255803	0.130368	

对不同处理水平下的土壤进行 Alaha 多样性分析,用 ace 指数和 Chao 指数表示土壤中菌群丰度水平,用香农指数和辛普森指数表示菌群多样性。结果显示,在第60天、第90天和第180天,ace 指数和 Chao 指数均呈现出对照组菌群丰度水平高于其他添酸组,香农指数和辛普森指数也显示出对照组菌群多样性高于其他添



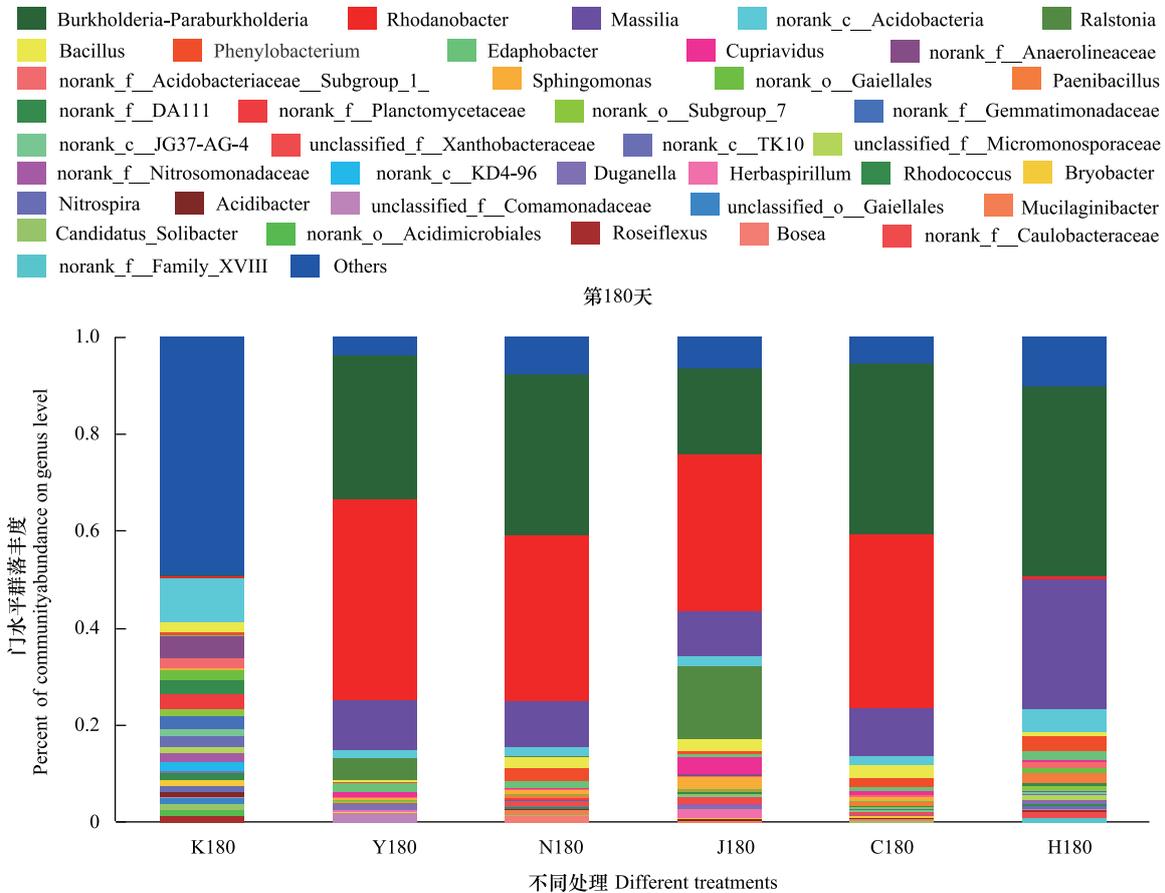


图4 属水平细菌群落结构分布

Fig.4 Bacteria community structure and distribution at genus level

酸组,这说明添加低分子有机酸降低了菲污染土壤中细菌丰度及多样性。在添加了低分子有机酸的组分中,第60天和第90天时酒石酸组细菌丰度及多样性较高,第180天时混合有机酸组较高。

2.4 细菌群落结构的相关性分析

用主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)的方法鉴别不同处理中细菌群落结构差异。由图6示,在 OTU 水平下进行了主成分分析,在第60、90、180天,对照组与其他添加低分子有机酸的组分相关性不明显。在第180天,添加草酸和柠檬酸组中 OTU 组成高度相似。其余不同时期不同组分之间相似度不高。

2.5 细菌群落结构的差异性分析

由图7示,用 Venn 图来表示不同时期细菌群落结构的差异性。第60天、第90天、第180天测得的 OTU 种类数分别为:2680、2705、2542;其中共有 OTU 种类(1911),占三个时期总 OTU 种类数(3370)的 56.71%;第60天、第90天、第180天独有的 OTU 数分别为 233(占总 OTU 种类数比例为 6.91%)、292(8.66%)、199(5.91%)。第60天、第90天、第180天测得的属种类分别为:530、560、540;其中共有属种类(446),占三个时期总属种类数(656)的 67.99%,独有的属数分别为 26(占总属种类数比例为 3.96%)、66(10.06%)、36(5.49%)。第60天、第90天、第180天测得的门种类分别为:31、33、28;其中共有门的种类(28),占三个时期总门种类数

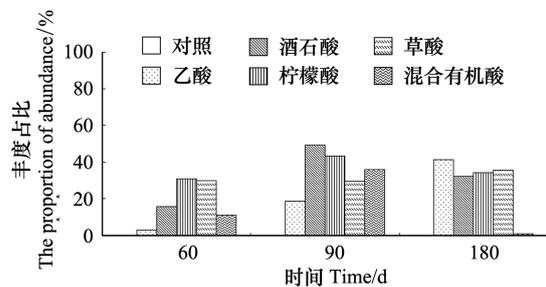


图5 不同时期产黄杆菌属丰度分布图

Fig.5 Distribution of Rhodanobacter abundance at different stages

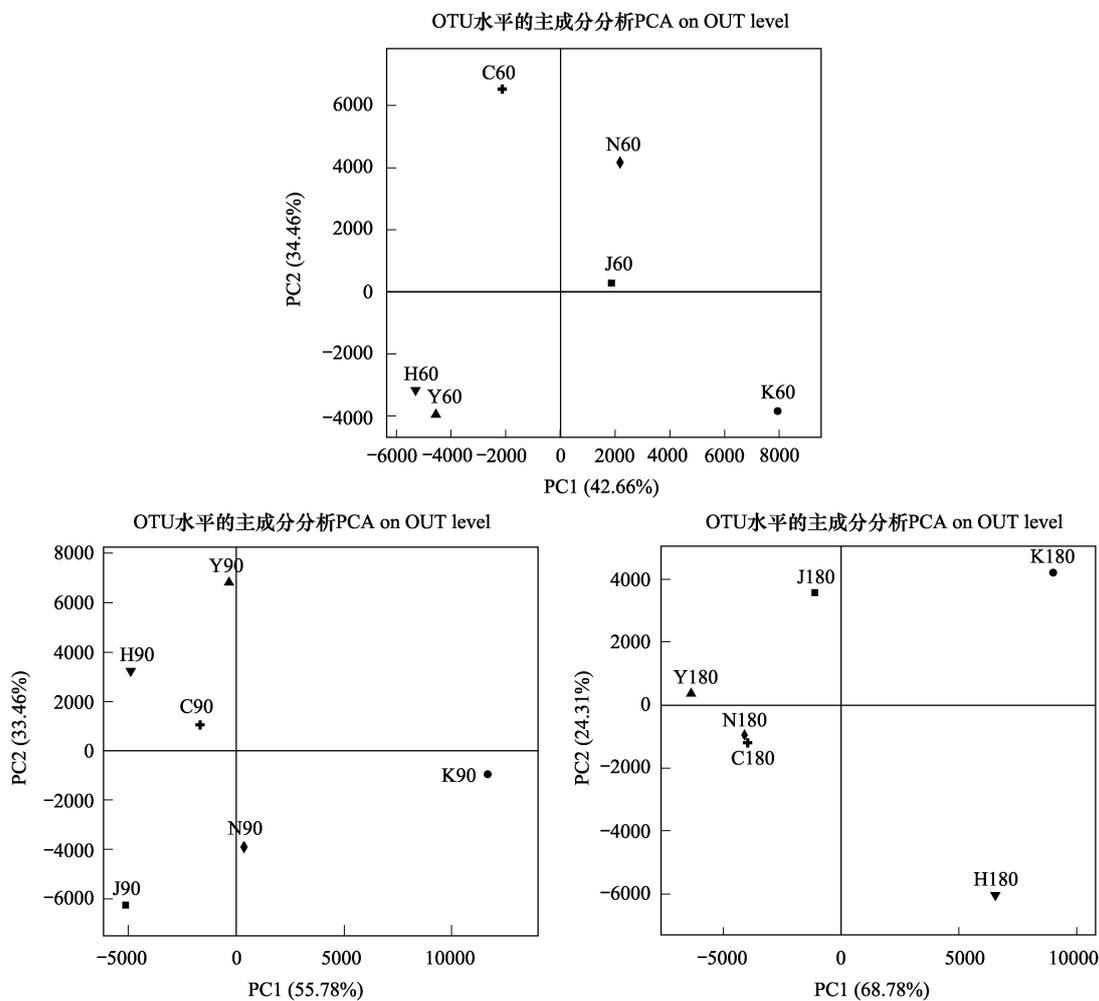


图6 细菌群落的主成分分析

Fig.6 Principal component analysis of bacterial community

(35)的80.00%,独有的门数分别为2(占总门种类数比例为5.71%)、4(11.42%)、0(0.00%)。在门水平、属水平和OUT水平下,第60天至第180天之间独有种类数均呈现出先增长后下降的趋势,说明了不同处理之间在第90天时细菌菌群差异性最大。

3 讨论与结论

目前,利用植物-微生物复合体系降解多环芳烃污染物已有一些报道^[16],但植物根系分泌物对植物-微生物复合体系降解多环芳烃的影响研究较少。本研究验证了添加根系分泌物促进了菲的降解,通过研究土壤中细菌群落特征,深入分析了根系分泌物降解菲的机理,为PAHs污染修复提供了科学数据。

菲污染土壤自身有一定的修复能力,但低分子有机酸对于土壤中菲的降解有明显的促进作用。低分子有机酸促进土壤中多环芳烃的降解主要因为提供了碳源促进了多环芳烃降解菌的生长,不同低分子有机酸提供的碳含量存在差异,超过一定浓度时会对土壤中的微生物产生抑制作用^[17],因此不同低分子有机酸对多环芳烃降解的促进作用不同。本研究中,通过计算一级动力学方程得出乙酸组对菲降解的促进作用强于其他组分,乙酸有应用于土壤修复治理的潜力,这可能是由于菲降解菌对不同种类低分子有机酸利用率不同,也可能由于不同种类低分子有机酸对土壤理化性质影响存在差异,添加低分子有机酸会导致土壤pH值降低,影响了土壤微生物群落结构,具体原因有待进一步分析。

通过高通量Illumina Miseq技术综合评价了土壤细菌群落特征,得出从细菌群落结构来看,土壤细菌的数

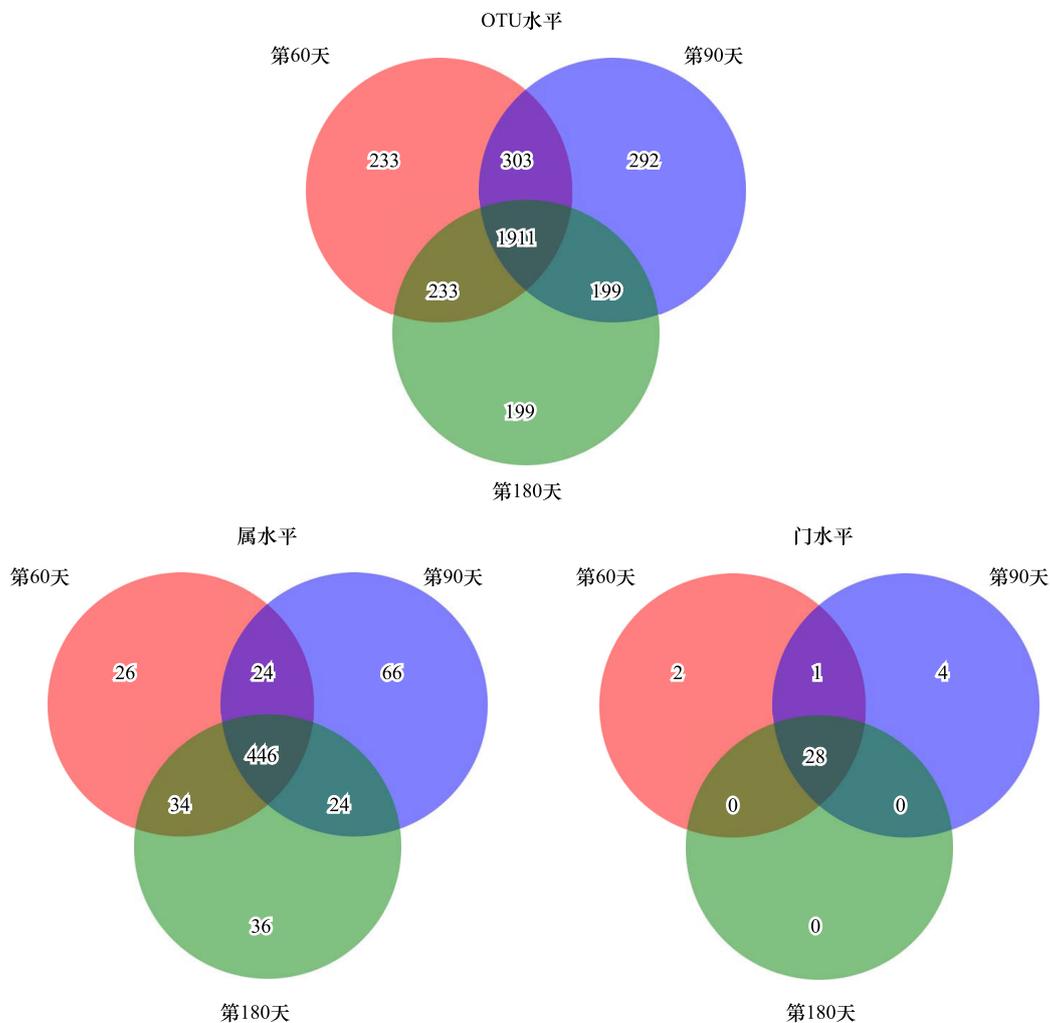


图 7 细菌群落结构的 Venn 图

Fig.7 Venn drawing of bacterial community structure

量及其多样性或许不是导致土壤菲降解的主要因素,反而特定的菲降解菌的丰度对菲降解有重要影响。这有可能是低分子有机酸仅为土壤中某些特定的微生物群落提供了碳源,促进了特定微生物的增长,并不一定会增加微生物总量及多样性。王悦等^[18]研究了三叶草根分泌物对多环芳烃微生物降解及加氧酶的影响,得出三叶草根分泌物促进了分枝杆菌 M1 加氧酶基因拷贝数的增长,却未明显引起 16S rDNA 基因数的增加。这说明了微生物数量及多样性并不是反映微生物降解多环芳烃能力的敏感指标。添酸组中变形菌门丰度明显高于对照组,且检测到的 5 种典型的菲降解菌(分别为: *Bacillus*^[11]、鞘氨醇单胞菌属^[12]、*Massilia*^[13]、*Azospirillum*^[14]、*Burkholderia-paraburkholderia*^[15])的丰度占比在添酸组中明显高于对照组,通过 PCA 分析也证明了对照组和其他添酸组的细菌菌群存在差异性。可能是因为菲降解菌丰度的增加促进了菲的降解,也可能与土壤理化性质有关,具体机制有待进一步研究。

添加低分子有机酸处理下不同时期土壤中细菌存在差异,随着时间推移土壤中总 OTU 数呈现下降趋势,有可能是土壤中碳源随时间减少,造成了土壤中 OTU 总数的减少。根据共代谢(Cometabolism)作用原理,也有可能是低分子有机酸的存在,增强了菲降解菌的酶活性,提高了菲降解菌对非生长基的降解效率。从细菌群落结构 Venn 图可以看出,添加低分子有机酸影响了 PAHs 污染土壤中细菌群落结构组成,在第 90 天时细菌菌群差异性最大,这与众多学者的研究结果一致^[19-20],说明随着时间推移,土壤中菲含量下降,引起了细菌多样性先增长后下降的改变^[21-22]。

参考文献 (References):

- [1] 傅家谟, 盛国英. 环境有机地球化学初探. 地学前缘, 1996, 3(2): 127-132.
- [2] Lohmann R, Gioia R, Jones K C, Nizzetto L, Temme C, Xie Z, Schulz-Bull D, Hand I, Morgan E, Jantunen L. Organochlorine Pesticides and PAHs in the surface water and atmosphere of the North Atlantic and arctic ocean. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43(15): 5633-5639.
- [3] 马斌. 多环芳烃在根际界面的环境行为及微生物响应[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [4] Gao Y Z, Ren L L, Ling W T, Gong S S, Sun B Q, Zhang Y. Desorption of phenanthrene and pyrene in soils by root exudates. *Bioresource Technology*, 2010, 101(4): 1159-1165.
- [5] 王娇娇. 植物、外加碳源和菌剂对多环芳烃(PAHs)污染介质的修复作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [6] Wei X Y, Sang L Z, Chen J N, Zhu Y X, Zhang Y. The effects of LMWOAs on biodegradation of multi-component PAHs in aqueous solution using dual-wavelength fluorimetry. *Environmental Pollution*, 2009, 157(11): 3150-3157.
- [7] 王蛟龙, 李际平, 谌小勇, 闫文德, 梁小翠, 章帆. 芘胁迫下紫玉兰根系活性及根系分泌物的响应. *中南林业科技大学学报*, 2017, 37(2): 50-56.
- [8] 王蛟龙, 谌小勇, 闫文德, 郝博, 张力, 任晓军, 刘之洲. 4种绿化树种根系分泌物中的化学成分分析. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2016, 44(10): 107-113.
- [9] Ling N, Song Y, Raza W, Huang Q W, Guo S W, Shen Q R. The response of root-associated bacterial community to the grafting of watermelon. *Plant and Soil*, 2015, 391(1/2): 253-264.
- [10] 吴雪茜. 表面活性剂强化生物修复石油污染土壤[D]. 徐州: 中国矿业大学, 2016.
- [11] 韦璇, 郝雅莽, 李光, 牛世莉, 王升厚, 赵洪新. 菲污染土壤的微生物修复机制. *微生物学杂志*, 2017, 37(6): 114-124.
- [12] 赵和平. 非降解菌分离鉴定、降解基因克隆与表达及菲跨膜作用研究[D]. 上海: 同济大学, 2007.
- [13] 顾海萍. *Massilia* sp. WF1 和 *Phanerochaete chrysosporium* 对非降解、吸附机理的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [14] 杨秀虹, 汤婉环, 李适宇. 一株非降解菌的生长特性及其对芘和芘的降解能力. *中山大学学报: 自然科学版*, 2012, 51(1): 107-113, 121-121.
- [15] Vacca D J, Bleam W F, Hickey W J. 霍炜洁, 于江. 土壤中腐植酸吸附菲的降解菌的分离. *腐植酸*, 2007, 41(2): 36-45.
- [16] 刘魏魏, 尹睿, 林先贵, 张晶, 陈效民, 李占胜, 李焯楨, 肖艳平. 多环芳烃污染土壤的植物-微生物联合修复初探. *土壤*, 2010, 42(5): 800-806.
- [17] Nannipieri P, Bollag J M. Use of enzymes to detoxify pesticide-contaminated soils and waters. *Journal of Environmental Quality*, 1991, 20(3): 510-517.
- [18] 王悦, 郭美霞, 金京华, 巩宗强, 贾春云, 李晓军, 张巍. 三叶草根分泌物对多环芳烃微生物降解及加氧酶的影响. *应用生态学报*, 2014, 25(11): 3145-3151.
- [19] 韩亚飞, 伊文慧, 王文波, 王延平, 王华田. 基于高通量测序技术的连作杨树人工林土壤细菌多样性研究. *山东大学学报: 理学版*, 2014, 49(5): 1-6.
- [20] Zhang T, Shao M F, Ye L. 454 pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants. *The International Society for Microbial Ecology Journal*, 2012, 6(6): 1137-1147.
- [21] Bogan B W, Sullivan W R. Physicochemical soil parameters affecting sequestration and mycobacterial biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Chemosphere*, 2003, 52(10): 1717-1726.
- [22] 吴宇澄, 林先贵, 朱清禾, 曾军, 丁庆旻. 冶炼企业周边农田土壤的多环芳烃污染及其细菌群落效应. *生态毒理学报*, 2016, 11(2): 484-491.