

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2022.01.016

陈晓芳, 高娟. 锯末对生物修复荧蒽和芘污染土壤的强化作用及影响因素. 土壤, 2022, 54(1): 121–127.

锯末对生物修复荧蒽和芘污染土壤的强化作用及影响因素^①

陈晓芳, 高娟*

(中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要: 通过土壤微宇宙培养试验, 研究了锯末尺寸、添加量和种类等因素对荧蒽特效降解菌 MC(*Mycobacterium flavescens*) 修复污染土壤(潮土、红壤、黑土、黄棕壤和水稻土)的效果。结果表明: 锯末联合降解菌 MC 修复荧蒽污染的黄棕壤效果较好, 优化条件下 25 d 荧蒽降解率为 $42.63\% \pm 1.05\%$; 该联合修复对黑土和红壤中荧蒽降解也有显著促进作用, 但对潮土和水稻土中荧蒽降解没有促进作用。黑土和潮土自身微生物群落对荧蒽有很好的降解作用, 红壤较低的酸碱性导致降解菌 MC 的加入不能够很好地降解荧蒽。由此, 针对不同类型土壤中相同污染物的修复技术应该相应调整, 才能达到节省成本促进降解去除的效果。

关键词: 持久性有机污染物; 荧蒽; 锯末; 生物修复; 土壤类型

中图分类号: X53 **文献标志码:** A

Sawdust-induced Microbial Bioremediation of Fluoranthene and Pyrene Contaminated Soils

CHEN Xiaofang, GAO Juan*

(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008)

Abstract: By means of microcosm experiments, we investigated the effects of sawdust on the remediation of fluoranthene and Pyrene contaminated soil together with *Mycobacterium flavescens* (MC). The effects of sawdust size, added amount and origin sources on the remediation of fluoranthene contaminated soil with MC were investigated. The results showed that: sawdust could improve the remediation efficiency of MC on soils, including yellow-brown soil, black soil and red soil. The microbial communities of black soil and fluvo aquic soil had a good degradation effect on fluoranthene, and the low pH of red soil led to the addition of degradation bacteria MC could not degrade fluoranthene well.

Key words: Persistent organic pollutants; Fluoranthene; Sawdust; Bioremediation; Soil type

多环芳烃(PAHs)是具有多个稠合苯环结构的一类化合物^[1], 是由煤、柴油、木材和植被等有机物不完全燃烧产生, 自然过程中如火山爆发和森林火灾也会产生^[2]。目前已发现有 100 多种不同结构的 PAHs 化合物, 其中大部分分子的水溶性低, 并可被固体颗粒吸附, 它们能在生态系统中存在多年而不被去除。且随着苯环数的增加, 它们在水中的溶解度降低, 吸附力增大^[3]。研究发现这类化合物具有致畸致癌致突变的危害, 因此被联合国列为重要的有机污染物, 引起了人们的极大关注^[4-7]。

针对土壤中的 PAHs 污染, 人们已经发展了物理、化学、生物等修复方法, 以及化学和植物联合修

复和微生物-植物联合修复等技术^[7-11]。对 PAHs 污染的土壤进行原位微生物修复, 比物理和化学修复具有高效性、经济性和环境友好性。在微生物原位修复中, 可以通过筛选有效降解菌、添加营养剂和表面活性剂等方法来增强修复的效果^[12-13]。在前期的研究中, 已有许多把锯末等农林废弃物制成生物质炭来促进微生物原位修复污染土壤的报道^[14-15], 但是直接把锯末应用于强化微生物降解去除土壤中有机污染的报道还不多。在土壤中添加锯末可提高土壤孔隙度和持水能力, 而且锯末中的纤维素和木质素也被微生物利用因而促进微生物的生长^[16-17]。这些微生物通常会产生漆酶、木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶和多用途过

①基金项目: 国家重点研发计划项目纳米专项(2017YFA0207000)、国家自然科学基金面上项目(41773125)和国家自然科学基金重大研究计划项目(41991331)资助。

* 通讯作者(juangao@issas.ac.cn)

作者简介: 陈晓芳(1994—), 女, 安徽六安人, 硕士, 主要从事有机污染土壤修复研究。E-mail: 1919527172@qq.com

氧化物酶等有效地氧化木质素^[18]。因此, 农业和林业废物可以提高特定环境中微生物的活性, 以提高碳氢化合物生物降解的效率。但是这些研究都是在单一菌群或是水溶液中进行, 而土壤作为一个复杂的生态系统, 其物理化学和生物学特性完全不同于上述系统。本研究选择 5 种不同类型土壤、3 种不同树种锯末和不同粒径锯末, 探究 PAHs 污染土壤中加入锯末能否提高荧蒽特效菌(*Mycobacterium flavescens*, MC)降解 PAHs 有机污染物的能力。本研究结果可用于指导强化微生物原位修复 PAHs 污染土壤。

1 材料与方法

1.1 材料

供试特效降解菌 MC 来自美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection), 编号为 ATCC 700033^[19], 是从印第安纳州西北部的大卡鲁梅特河底泥中分离出的一种黄色分枝杆菌, 以芘为唯一碳源和能源, 并能够显著降解荧蒽。

供试 3 种锯末(saw dust, SD)均为干样, 分别来自松树、香樟树和橡树树种。松树木材常用于建筑、电杆、枕木、矿柱、桥梁、农具、器具、家具等制作; 香樟树

树木多用于造船、橱柜和建筑等; 橡树本身十分耐磨, 是各国发动机缸垫的原材料, 也被广泛用于生产葡萄酒和香槟酒的酒塞。由于 3 种木材的广泛应用, 必然产生大量的锯末, 使之廉价易得。3 种锯末的基本理化性质为: 松树锯末: 有机质 716.92 g/kg, 全氮 3.24 g/kg; 香樟锯末: 有机质 518.66 g/kg, 全氮 2.16 g/kg; 橡树锯末: 有机质 542.70 g/kg, 全氮 2.31 g/kg。本研究中, 由于松树锯末的联合修复效果较好, 且松树锯末比较常见, 试验以松树锯末进行多影响因素研究, 包括锯末添加量(占总土质量的 0.1%、0.5%、1.0% 和 2.0%)和锯末粒径(10 目、20 目和 60 目)。锯末粒径通过以下方法进行筛选, 操作如下: 首先用粉碎机进行粉碎, 在利用 10、20 和 60 目孔径的筛子进行筛选。

供试 5 种土壤类型, 分别为安徽黄棕壤、黑龙江海伦黑土、江西鹰潭红壤、山东聊城潮土和浙江嘉兴水稻土, 其基本理化性质见表 1。在这 5 种土壤中均未检测出荧蒽和芘污染。本试验人为添加 10 mg/kg 的荧蒽和 10 mg/kg 的芘于 5 种土壤中, 并将土壤放置于避光通风处进行自然老化两周。老化后的土壤中荧蒽和芘的实测值为初始含量。(在锯末添加比例的试验中, 污染物荧蒽和芘的浓度设置偏高)

表 1 土壤基本理化性质
Table 1 Physicochemical properties of tested soil

项目	黄棕壤	黑土	红壤	潮土	水稻土
采样点	安徽	黑龙江海伦	江西鹰潭	山东聊城	浙江嘉兴
质地	粉砂质黏壤土	粉砂质黏壤土	黏土	砂质壤土	粉砂壤土
pH	5.29	5.78	4.91	8.24	6.82
EC(mS/cm)	0.06	0.09	0.05	0.13	0.12
有机质(g/kg)	21.88	54.71	10.11	8.04	33.43
全氮(g/kg)	1.08	2.58	0.73	0.56	2.03
全磷(g/kg)	0.70	1.00	0.62	1.09	0.55
碳酸钙(g/kg)	0.73	0.44	0.79	45.55	5.01
颗粒组成 (g/kg)	2 ~ 0.05 mm	197.0	197.2	141.2	628.4
	0.05 ~ 0.002 mm	506.6	417.2	530.8	318.2
	<0.002 mm	296.4	385.6	328.0	53.4
				262.4	

1.2 土壤污染微生物降解试验

制备降解菌 MC 的菌悬液: 将实验室保存的 MC 菌接种至 50 ml LB 培养基(胰蛋白胨 10 g、NaCl 10 g、酵母提取物 5 g、加水至 1 L, pH 7.2), 置于恒温振荡培养器(28℃、150 r/min)中培养 1 d; 然后在 4℃、10 000 r/min 条件下离心 10 min, 弃去上清液, 并向离心管加入 30 ml 无菌生理盐水(0.9% 氯化钠溶液), 摇匀, 在相同条件下离心 10 min, 弃去上清液。如此反复 3 次, 用无菌生理盐水调节降解菌的菌悬液 OD

值为 1.0(在 600 nm 处测定值)。

液体摇瓶预试验: 设置两个处理组, 分别为① CK: 于 250 ml 三角瓶中加入 100 ml 无机盐培养基, 并加入污染物荧蒽和芘, 使最终浓度为 6 mg/L; ② MC: 于 250 ml 三角瓶中加入 100 ml 无机盐培养基, 并加入污染物荧蒽和芘, 使最终浓度为 6 mg/L, 再加入 1 ml MC 菌悬液于无机盐培养基中。实验操作在无菌工作台中完成, 用封口膜封住瓶口, 于黑暗条件下在恒温振荡培养器(28℃、150 r/min)中培养, 分

别于 0、4 和 8 d 取样测定。

土壤微宇宙培养试验: 在 20 ml 的棕色玻璃瓶中装入 10 g 污染土, 在需要加入锯末的处理中, 将一定添加比例和粒径的锯末与 1 ml 上述特效菌悬液混合拌匀后再与污染土壤混合; 空白实验中不加 MC 菌和锯末。在各种处理中将含水率调至 20%, 用封口膜封住瓶口, 于 25℃ 黑暗条件下培养。培养瓶放入培养箱, 每天加水调节土壤含水量, 分别于 0、15 和 30 d 进行取样测定。

红壤酸碱度调节试验: 向一定量红壤样品中添加少量 1 mol/L NaOH, 并用去离子水将所有土壤样品水分含量均调至最大持水量的 65%。将处理后的土壤置于 25℃ 下恒温培养。每天取少量土壤检测其 pH, 如果 pH 没有调至所需值, 通过添加 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 进行调节, 直至土壤 pH 趋于所需稳定值。

1.3 土壤 PAHs 测定方法

样品中芘和荧蒹的提取: 将土壤悬液混匀、冷冻干燥并磨细, 然后称取 1 g 土样加入 5 ml 正己烷+丙酮(1:1, V/V)混合液, 涡旋混匀后, 振荡 1 h, 静置一段时间后, 取提取液上层并过 0.22 μm 有机滤膜后加入样品瓶, 上机测试。

样品中芘和荧蒹浓度的检测: GC7890B-5977A 气相色谱质谱联用仪(日本岛津公司); 色谱柱: SH-Rxi-5SilMS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)毛细柱; 正己烷、丙酮均为 HPLC 级。色谱条件: 进样口温度 250℃, 柱流速 1 ml/min; 进样量 1 μl; 分流比 5:1; 程序升温, 60℃ 保持 1 min, 以 10℃/min 升至 280℃, 保持 5 min。质谱条件: 全扫描(Scan); 扫描离子范围, 45~400 m/z, EI 源; 离子化能量 70 eV; 离子源温度 200℃; 四级杆温度 150℃; 接口温度 250℃; 溶剂延迟 5 min。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2013、SPSS 20.0 和 Origin 2019 软件进行数据处理和绘图, 使用单因素方差分析(one-way ANOVA)法确定各处理之间的差异显著性, 然后用 Duncan 法进行多重比较检验($P<0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 降解菌降解特性

MC 菌是荧蒹和芘去除的特效降解菌, 近年不少学者利用 MC 菌研究细菌降低植物体内 PAHs 的机理, 并探究其应用于减少蔬菜中 PAHs 累积的方法^[20-21]。在预试验中, 通过液体摇瓶培养试验培养 MC 菌(28℃ 黑暗条件下培养 8 d; 转速为 160 r/min; 接菌量: 取富

集后 OD₆₀₀ 为 1.0 左右的对数期 MC 菌 1ml 于 100 ml 无机盐培养基中), 发现 MC 菌在 8 d 内对荧蒹的降解去除(8 d 内 100% 去除)比对芘的去除(8 d 内 14.21%)更快(图 1)。

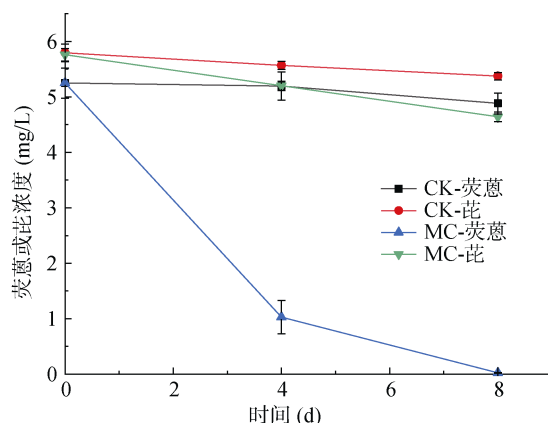


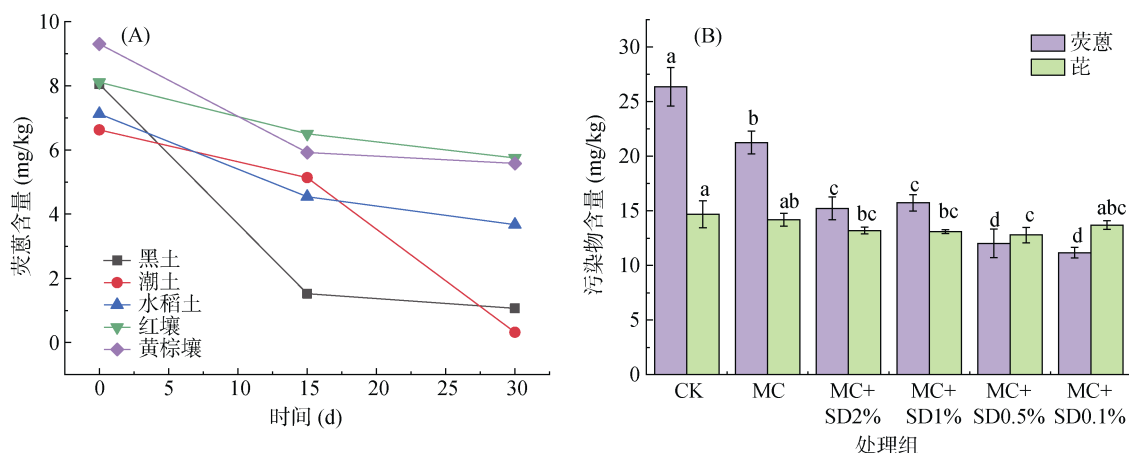
图 1 荧蒹和芘在 MC 菌培养液中降解

Fig. 1 Degradation of fluoranthene and pyrene in MC culture medium

2.2 锯末添加量及粒径对原位强化修复效果的影响

从 5 种老化后土壤的微宇宙培养试验结果来看(图 2A), 除黑土和潮土外, 老化土壤中的荧蒹在 20% 湿度条件下 30 d 内不容易被完全降解, 且在不同土壤中荧蒹的去除速率不同。其中, 黑土中荧蒹降解去除最快, 15 d 后去除 $89.92\% \pm 0.37\%$; 潮土中荧蒹在 15 d 时降解去除($22.48\% \pm 3.96\%$)效果不佳, 而 15 d 后降解加速, 到 30 d 时去除率为 $95.16\% \pm 0.82\%$; 而黄棕壤和红壤中荧蒹的去除率在 30 d 时仅为 $34.45\% \pm 7.71\%$, 说明这两种土壤中缺乏有效的荧蒹降解菌。在荧蒹和芘共同老化的黄棕壤中添加 MC 菌, 培养 15 d 后, 发现 MC 菌能显著促进老化黄棕壤中荧蒹的降解($57.40\% \pm 4.71\%$), 但不能显著促进芘的降解(图 2B)。因此, 后续试验以荧蒹污染土壤为主要研究对象。

当培养土(黄棕壤)中添加 MC 菌和锯末(松树, 尺寸 20 目)时, 荧蒹的提取浓度进一步降低, 而且当锯末添加量为 0.1% 和 0.5% 时对荧蒹降解效果比 1.0% 和 2.0% 的添加量更显著; 其中当添加量为 0.5% 时, 不仅荧蒹提取浓度显著降低, 而且芘的提取浓度也有显著性降低, 而其他锯末添加量并不能显著降低芘的提取浓度。这一结果说明, 在适当条件下锯末的添加可以强化 MC 菌有效降解去除土壤中的荧蒹和芘。通过检测培养 25 d 后的黄棕壤中的微生物菌落数, 发现添加锯末的土壤中微生物菌落数显著



(图 B 中供试土壤为黄棕壤, 培养 15 d, MC 代表 *Mycobacterium flavescens* 降解菌, SD 代表木屑, 百分比代表添加比例; 柱图上方不同小写字母表示荧蒹(芘)在不同处理之间差异达 $P < 0.05$ 显著水平; 下同)

图 2 荧蒹在老化土壤中的变化(A)及锯末添加比例对荧蒹和芘降解效果的影响(B)

Fig. 2 The changes of fluoranthene concentrations in soils(A) and the effects of sawdust addition ratio on the degradation of fluoranthene and pyrene(B)

提高($8.76 \text{ CFU/g} \pm 0.36 \text{ CFU/g}$), 约是空白对照组($5.37 \text{ CFU/g} \pm 0.42 \text{ CFU/g}$)和只添加 MC 菌的土壤中微生物菌落数($5.83 \text{ CFU/g} \pm 0.29 \text{ CFU/g}$)的 1.5 倍。因此, 在黄棕壤中锯末的加入可以显著提高土壤微生物群落的菌落数, 促进土壤中荧蒹的去除, 可能原因是锯末可为降解菌提供一个适宜生长繁殖的环境, 也可能增加了微生物的食物和营养。这与前期的研究结果相符, 如锯末的加入可以促进土壤中石油降解菌(鞘氨单胞菌、*Idiomarina* 和 *Phenylobacterium* 以及

Humicola、*Wallemia* 和 *Graphium* 真菌)的生长, 从而促进石油污染土壤中 PAHs 的降解^[21]。

图 3A 显示了不同粒径锯末对荧蒹污染黄棕壤修复 25 d 后的去除效果, 结果表明, 锯末粒径为 20 目时对 MC 去除荧蒹的效果最好, 增加了 $42.63\% \pm 1.05\%$ 的去除率; 其中当锯末粒径为 10 目时, 与空白处理组相比没有差异, 与添加 MC 处理相比, 反而有所抑制 MC 降解菌的降解效果。这说明锯末粒径过小对 MC 原位去除荧蒹没有作用, 而尺寸太大会降低锯末的强化作用。

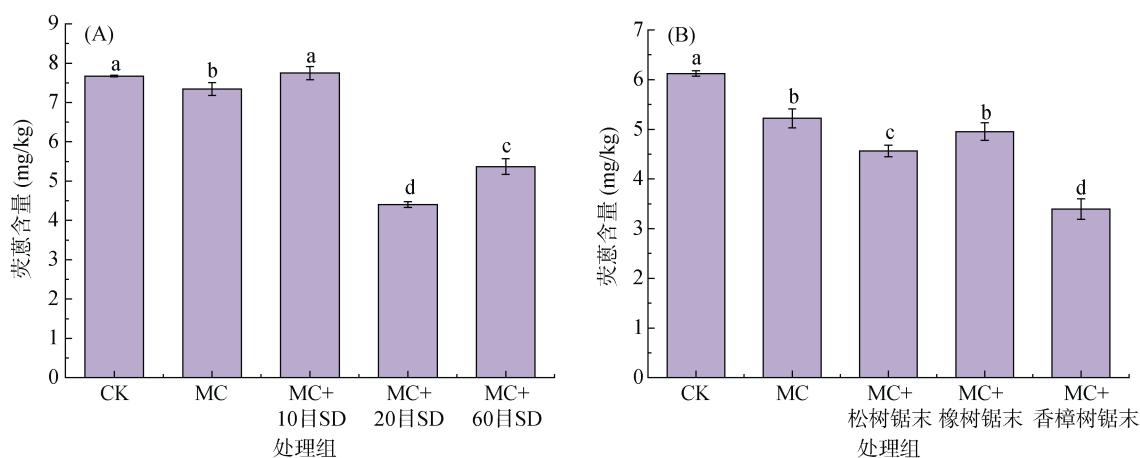


图 3 锯末粒径及种类对荧蒹降解效果的影响

Fig. 3 Effects of sawdust size and types on degradation effect of fluoranthene in soil

2.3 锯末种类对原位强化修复效果的影响

图 3B 显示了松树、橡树和香樟树锯末(尺寸 20 目)对荧蒹污染的黄棕壤修复 10 d 后的降解效果, 其中香樟树锯末对降解菌 MC 去除荧蒹强化效果最好, 降解率提高了 $35.05\% \pm 1.64\%$; 松树锯末对 MC 降解

菌促进荧蒹降解效果提高了 $12.55\% \pm 2.42\%$; 而橡树锯末对降解菌 MC 去除荧蒹没有显著影响。不同锯末的促进效果不同, 可能是因为不同锯末所含纤维素、木质素的含量不同, 也有可能是其物质性质(如体内纤维素孔径不同), 或者含有一些特殊的物质影响微

生物生长, 这有待进一步的深究。而且不同品种锯末本身可能带有一些能够降解 PAHs 的微生物群落, 而这些不同群落对 PAHs 的降解能力不同也可能是导致几种锯末促进降解 PAHs 效果不同的原因, 如 Ali 等^[16]在锯末中分离出的真菌(如 *Candida* sp. SDF1、*Penicillium* sp. SDF4、*Cladosporium* sp. SDF7)和细菌(如 *Actinobacterium* sp. SDB1、*Micrococcus luteus* SDB2、*Rhodococcus opacus* SDB4)都能去除相当比例的非和正十六烷。

2.4 土壤类型对锯末原位强化修复效果的影响

荧蒽污染的土壤(黄棕壤、黑土、潮土、水稻土和红壤)在空白对照处理中显示不同的原位去除荧蒽的效果(图 2A)。图 2B 和图 3 的试验结果显示, 锯末的添加可以强化 MC 菌降解去除黄棕壤中的荧蒽污染。对于其他 4 种土壤, 试验结果(图 4)显示, 黑土中, 空白对照处理、只添加 MC 处理与添加 MC+锯

末处理土壤中荧蒽去除的趋势大体一致, 15 d 时去除率为 $82.28\% \pm 1.14\%$, 30 d 时去除率为 $89.28\% \pm 0.77\%$, 其中, 15 d 时与空白对照处理相比, MC 处理和 MC+锯末处理均能显著降低荧蒽浓度, 但两处理间并无差异; 30 d 时与空白对照处理相比, MC 和 MC+锯末处理组均能显著降低荧蒽浓度, 且 MC+锯末处理较单一降解菌 MC 处理有显著(12.5%)促进作用, 说明在黑土中加入锯末强化去除荧蒽有显著作用。在空白对照处理中未加入 MC 菌和锯末, 15 d 后也可以很快去除荧蒽, 可能的原因是黑土中存在可以降解污染物荧蒽的微生物群落, 并且黑土中有机质含量(54.71 g/kg)很高, 微生物群落生长较快, 因此对污染物荧蒽的去除也快。HUANG 等^[22]的研究发现, 黑土在培养 21 d 后可将 5、30 和 70 mg/kg 的芘降解完全, 且芘的减少与土壤中芘双加氧酶基因(nidA)丰度的增加呈正相关关系。

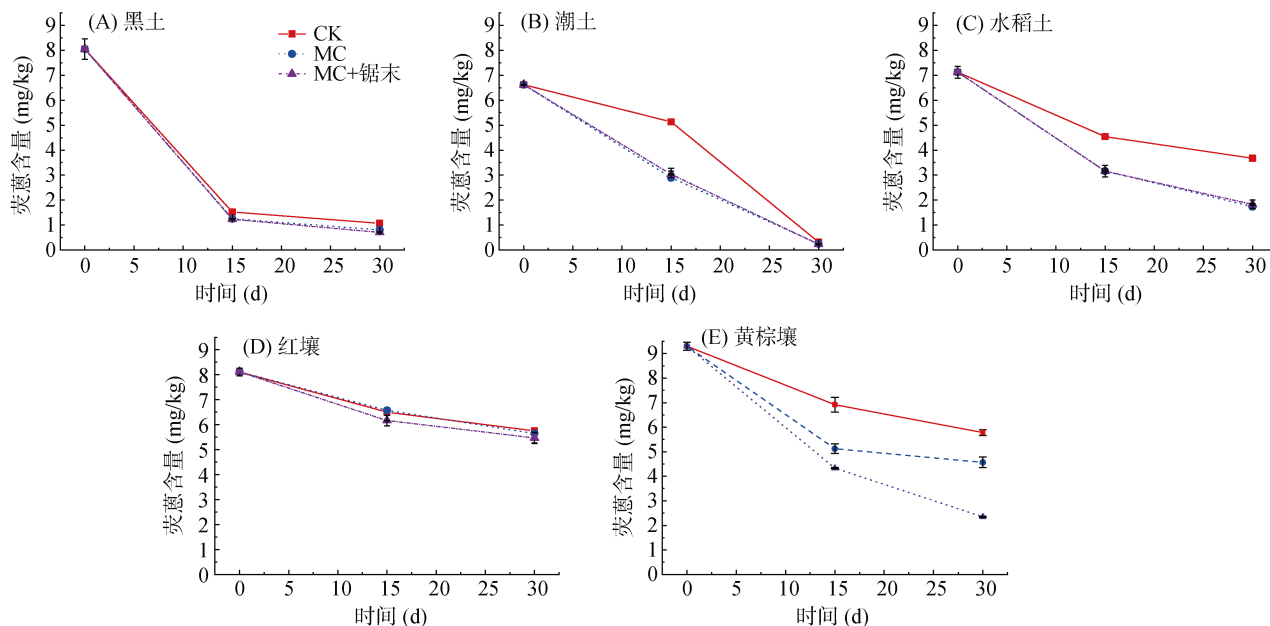


图 4 锯末对荧蒽污染土壤的修复效果

Fig. 4 Remediation effects of sawdust on fluoranthene contaminated soils

潮土中, 只添加 MC 处理和添加 MC+SD 处理土壤中荧蒽降解趋势大体一致, 15 d 时降解率为 $55.25\% \pm 1.13\%$, 30 d 时降解率为 $96.36\% \pm 0.21\%$, 并且两处理在 15 d 和 30 d 时并没有显著性差异, 说明锯末在潮土中对 MC 降解荧蒽没有促进作用。无添加对照处理土壤中荧蒽在前期降解缓慢, 后期快速降解。其可能原因是潮土中也含有能够降解荧蒽的微生物群落, 但由于潮土有机质含量(8 g/kg)偏低, 微生物群落复苏、繁殖缓慢, 15 d 后微生物完全复苏并大量繁殖快速降解污染物荧蒽。本试验结果与 Ren 等^[23]研

究结果相符, 在人为添加芘的黑土和潮土中, 芘在潮土中 42 d 后才能完全被去除, 而在黑土中只需 21 d。

水稻土中, 加入 MC 能够有效去除荧蒽, 但锯末没有显著的强化效果。无添加对照处理中荧蒽去除速率显著慢于其他两个处理土壤, 添加 MC 处理和添加 MC+锯末处理的土壤中荧蒽的去除在 15 d 和 30 d 时并没有显著性差异, 分别为 $55.62\% \pm 0.83\%$ 和 $75.42\% \pm 1.07\%$ 。这一结果说明, 水稻土中存在能够降解荧蒽的微生物群落但荧蒽降解菌较少, 而锯末在水稻土中里强化效果不明显。有研究表明, 采自江苏

常熟的未污染水稻土在人工添加芘后, 培养 42 d 土壤中芘降解了 98%^[24]。

相比于其他 4 种土壤, 红壤中芘的降解最慢, 添加 MC 处理土壤中芘含量与无添加对照处理土壤样品中无明显差异, 而添加 MC+锯末处理虽然有显著强化作用, 但仅仅提高了 5.23% 的降解率, 而且在培养 30 d 后三组处理间的差异性消失。由此可知, 特效降解菌 MC 在污染红壤中不能有效促进芘的降解, 推测可能的原因是红壤偏酸且有机质含量低, 抑制降解菌的繁殖, 加入锯末只在前期起到一定的促进作用。有学者也曾研究江西鹰潭红壤中微生物对芘的利用情况, 研究发现, 红壤中原有的微生物群落不能有效去除芘^[23], 但把水稻土与红壤混合后, 在水稻土中具有能够利用 PAHs 的微生物, 并且水稻土与红壤的混合改变了土壤的理化性质, 因此随水稻土的添加比例增加使有效的降解菌进入土壤而促进混合土壤中芘的去除^[24]。如果把红壤 pH 从 4.91(表 1)调整为 5.80, 进行 3 种处理, 结果发现, 在 16 d 后添加 MC 处理土壤和添加 MC+锯末处理土壤中芘的含量显著低于与无添加对照处理(图 5), 但添加锯末没有显著强化效果, 此结果说明 pH 会显著影响降解菌修复红壤中的芘污染。这一结果与付登强等^[25]的研究结果一致, 其研究发现, 如果改变土壤的 pH 从 4.7 提升至 6.1 后, 土壤中的菌落数增长了约 24 倍。

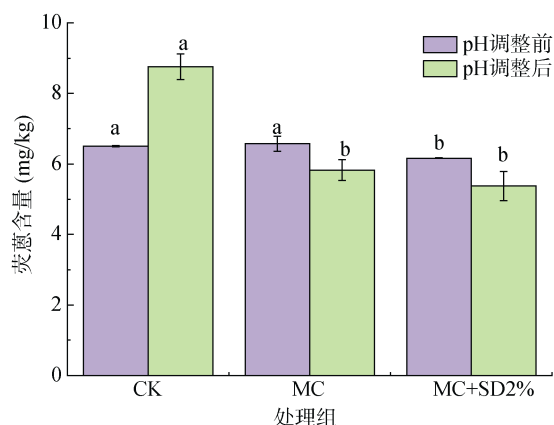


图 5 红壤调整 pH 前后修复效果

Fig. 5 Remediation effects of red earths before and after pH adjustment

3 结论

本研究发现, 锯末的添加可以加速有效降解菌对芘的去除, 但对芘的降解去除没有显著强化作用; 而且最佳的锯末粒径为 20 目, 添加量为土壤总质量

的 0.1% 和 0.5% 时促进效果最好。不同树种制得的锯末效果不一, 如松树和香樟树的修复强化效果比橡树的好。对于不同土壤类型, 添加降解菌 MC 和锯末的修复效果差异较大, 其中锯末的添加在黄棕壤中的强化修复效果最好; 添加锯末对于黑土中芘的原位降解有显著促进作用, 而对于潮土, 锯末和 MC 处理能在前期加速降解芘; 对于水稻土和红壤, 锯末的强化修复作用不明显; 而增加土壤酸碱性(4.7 ~ 6.1)可以增加锯末的强化修复效果。本研究结果表明锯末强化微生物修复 PAHs 污染土壤有许多影响因素, 应针对性地应用, 对于有机质含量高微生物群落多的土壤不需要有效微生物的添加。

参考文献:

- [1] 吴宇澄, 林先贵. 多环芳烃污染土壤真菌修复进展[J]. 土壤学报, 2013, 50(6): 1191-1199.
- [2] 倪秀峰, 王儒威, 蔡飞旋, 等. 燃煤电厂和垃圾焚烧电厂燃烧产物中卤代多环芳烃的赋存特征和毒性风险[J]. 环境科学, 2021, 42(4): 1660-1667.
- [3] Wang D G, Yang M, Jia H L, et al. Seasonal variation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and air of Dalian areas, China: An assessment of soil-air exchange[J]. Journal of Environmental Monitoring, 2008, 10(9): 1076-1083.
- [4] Gu Y G, Ke C L, Liu Q. Characterization, sources, and ecological hazards of polycyclic aromatic hydrocarbons in the intertidal sediments of Zhelin Bay, the biggest mariculture area on the eastern Guangdong Coast of China[J]. Marine Pollution Bulletin, 2018, 130: 192-197.
- [5] Lou J, Gu H P, Wang H Z, et al. Complete genome sequence of *Massilia* sp. WG5, an efficient phenanthrene-degrading bacterium from soil[J]. Journal of Biotechnology, 2016, 218: 49-50.
- [6] Wang H Z, Lou J, Gu H P, et al. Efficient biodegradation of phenanthrene by a novel strain *Massilia* sp. WF₁ isolated from a PAH-contaminated soil[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(13): 13378-13388.
- [7] Bouchez M, Blanchet D, Haeseler F, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment-Microbial degradation[J]. Revue De L Institut Francais Du Petrole, 1996, 51(6): 797-828.
- [8] 曾军, 吴宇澄, 林先贵. 多环芳烃污染土壤微生物修复研究进展[J]. 微生物学报, 2020, 60(12): 2804-2815.
- [9] 何洋, 董志成, 刘林德, 等. 沉积物中多环芳烃的植物修复研究进展[J]. 环境工程, 2018, 36(2): 168-172.
- [10] 潘栋宇, 侯梅芳, 刘超男, 等. 多环芳烃污染土壤化学修复技术的研究进展[J]. 安全与环境工程, 2018, 25(3): 54-60, 66.
- [11] 王飞. 土壤多环芳烃污染修复技术的研究进展[J]. 环境与发展, 2019, 31(2): 55-58.

- [12] Varjani S, Upasani V N. Influence of abiotic factors, natural attenuation, bioaugmentation and nutrient supplementation on bioremediation of petroleum crude contaminated agricultural soil[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 245: 358–366.
- [13] Varjani S, Upasani V N. Comparing bioremediation approaches for agricultural soil affected with petroleum crude: A case study[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2019, 59(3): 356–364.
- [14] 周震峰, 张海光, 王建超. 生物炭对土壤中 DBP 和 DEHP 微生物降解的影响[J]. *湖北农业科学*, 2016, 55(17): 4580–4583, 4597.
- [15] 孔露露, 周启星. 生物炭输入土壤对其石油烃微生物降解力的影响[J]. *环境科学学报*, 2016, 36(11): 4199–4207.
- [16] Ali N, Eliyas M, Al-Sarawi H, et al. Hydrocarbon-utilizing microorganisms naturally associated with sawdust[J]. *Chemosphere*, 2011, 83(9): 1268–1272.
- [17] Dashti N, Ali N, Khanafer M, et al. Oil uptake by plant-based sorbents and its biodegradation by their naturally associated microorganisms[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 227: 468–475.
- [18] Mathieu Y, Gelhaye E, Dumarçay S, et al. Selection and validation of enzymatic activities as functional markers in wood biotechnology and fungal ecology[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2013, 92(2): 157–163.
- [19] Dean-Ross D, Cerniglia C E. Degradation of *Pyrene* by *Mycobacterium flavescens*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1996, 46(3): 307–312.
- [20] 孙凯, 李舜尧, 陈明雨, 等. 接种混合功能细菌降低黑麦草体内菲和芘污染的机理初探[J]. *环境科学学报*, 2019, 39(4): 1303–1311.
- [21] Wang J, Liu J, Ling W T, et al. Composite of PAH-degrading endophytic bacteria reduces contamination and health risks caused by PAHs in vegetables[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 598: 471–478.
- [22] Huang Y J, Pan H, Wang Q L, et al. Enrichment of the soil microbial community in the bioremediation of a petroleum-contaminated soil amended with rice straw or sawdust[J]. *Chemosphere*, 2019, 224: 265–271.
- [23] Ren G D, Teng Y, Ren W J, et al. *Pyrene* dissipation potential varies with soil type and associated bacterial community changes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 103: 71–85.
- [24] Wang B B, Teng Y, Xu Y F, et al. Effect of mixed soil microbiomes on *Pyrene* removal and the response of the soil microorganisms[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 640/641: 9–17.
- [25] 付登强, 滕应, 骆永明, 等. 土壤 pH、水分及温度对长期污染土壤中苯并[a]芘动态变化的影响初探[J]. *土壤*, 2012, 44(3): 444–449.