

周东兴,王 兵,邓 杰,等. 蚯蚓与细菌协同作用对土壤中聚丙烯酰胺的降解效果[J]. 江苏农业科学,2017,45(6):259-262.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.067

蚯蚓与细菌协同作用对土壤中聚丙烯酰胺的降解效果

周东兴,王 兵,邓 杰,宁玉翠,斯琴毕力格,王广栋,李胜男

(东北农业大学资源与环境学院,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:从含有聚丙烯酰胺(PAM)的污泥中分离得到2株PAM降解菌PAM1和PAM5,通过16S rDNA序列分析,初步鉴定PAM1为*Comamonas kerstersii*,PAM5为*Comamonas terrigena*。通过24 d室内培养试验,研究细菌与蚯蚓协同作用对土壤中PAM降解的影响。试验共设置4个处理,分别为空白试验(CK)、接种细菌(B)、加入蚯蚓(E)以及同时接入细菌和蚯蚓(BE),28℃恒温培养。结果表明,在同一PAM污染浓度下,各处理PAM降解率均随时间的增加而升高,培养24 d后各处理的降解率差异显著,其降解率的大小顺序为BE>B>E>CK。说明单独加入蚯蚓、细菌以及同时接入蚯蚓和细菌都能显著促进土壤中PAM的降解,且以蚯蚓与细菌协同作用对土壤中PAM的降解效果最好;在不同PAM浓度下,处理B、BE、CK对PAM的降解随着PAM浓度的增加而降低;E处理对PAM的降解率随PAM浓度的增加仅产生轻微波动。

关键词:蚯蚓;细菌;协同作用;聚丙烯酰胺降解;PAM1;PAM5

中图分类号: S181 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)06-0259-04

聚丙烯酰胺(PAM)由丙烯酰胺均聚或与其他单体共聚而成,是一种线性水溶性有机高分子聚合物,能以任何比例溶于水,几乎不溶于乙醚、苯、酯类、丙酮等一般有机溶剂,兼具絮凝性、增稠性、耐剪切性、降阻性、分散性等性能^[1-2]。由于其良好的絮凝性能,PAM开始在水处理领域得到广泛应用,包括原水处理、污水处理、工业水处理、城市生活污水处理等,目前仍然是国内外水处理领域使用量最大的水处理剂^[3]。此外PAM也被广泛应用于造纸、石油开采、纺织、农业等领域,有“百业助剂”之称^[4]。但在PAM被广泛应用的同时,由于受到技术和工艺等水平的限制,PAM被排放到环境中,逐渐累积,造成环境中有大量的PAM残留,最终进入土壤,长此以往会对土壤环境产生一定的影响^[5]。虽然少量的PAM施加到土壤中会对土壤起到一定的改良作用,但是过量的PAM会引起土壤板结,使土壤透气性变弱,从而影响作物的生

长^[6]。此外,PAM在环境中受各种理化及生物因素的影响会发生缓慢的降解,产生丙烯酰胺单体(AM),AM具有较强的神经毒性、致癌性及遗传性毒性等,对环境造成污染的同时也会对人体产生直接或间接的危害^[7-8]。

处理PAM最核心的问题便是PAM的降解。相比于利用物理或化学方法降解PAM,生物降解过程不产生剧毒的AM,无二次污染,具有经济、环保等优点^[9]。然而,在利用微生物修复受污染土壤的过程中,土壤受污染导致含氧量过低往往会限制土壤污染物的降解^[10]。蚯蚓作为土壤生态环境中的重要组成部分,在修复污染土壤方面具有重要作用,研究发现蚯蚓能通过自身的生命活动,如运动、取食、挖掘等行为,改善土壤的通气,促进外源添加到土壤中的微生物传播^[11-13]。但关于蚯蚓与微生物协同作用降解土壤中PAM效果的研究还未见报道。本试验通过蚯蚓和细菌的单独和混合培养,研究蚯蚓和细菌及其相互作用对土壤中PAM降解效果的影响,旨在探究蚯蚓与微生物联合修复PAM污染土壤的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

PAM购自天津致远化学试剂有限公司,水解度30%。用

有机磷和有效磷分布的影响[J]. 浙江农林大学学报,2011,28(1):33-39.

[14]史振鑫,孟安华,吴景贵,等. 牛粪处理方式对黑土胡敏酸和富里酸的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2014,42(3):145-151.

[15]Lyimo H F,Pratt R C,Mnyuku R W. Composted cattle and poultry manures provide excellent fertility and improved management of gray leaf spot in maize[J]. Field Crops Research,2012,126:97-103.

[16]刘永欣. 秸秆深还对土壤腐殖质垂直分布及其结构特征的影响[D]. 长春:吉林农业大学,2014.

[17]Johnsson L,Berggren D,Kårén O. Content and bioavailability of

organic forms of nitrogen in the O horizon of a podzol[J]. European Journal of Soil Science,1999,50(4):591-600.

[18]张晋京,窦 森,朱 平,等. 长期施用有机肥对黑土胡敏素结构特征的影响——固态¹³C核磁共振研究[J]. 中国农业科学,2009,42(6):2223-2228.

[19]窦 森,肖彦春,张晋京. 土壤胡敏素各组分数量及结构特征初步研究[J]. 土壤学报,2006,43(6):934-940.

[20]卓苏能,文启孝. 核磁共振技术在土壤有机质研究中的应用的新进展(上)[J]. 土壤学进展,1994,22(5):46-52.

[21]关 松,窦 森. 添加玉米秸秆对黑土团聚体富里酸结构特征的影响[J]. 农业环境科学学报,2015,34(7):1333-1340.

于筛选 PAM 降解菌的污泥,取自黑龙江省哈尔滨市文昌污水处理厂。

选择性液体培养基的组成:蔗糖 0.50 g/L, PAM 0.30 g/L, $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.50 g/L, K_2HPO_4 0.50 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.20 g/L, CaCl_2 0.01 g/L, NaCl 0.50 g/L, pH 值自然^[14]。选择性固体培养基:向上述培养基中加入 15~20 g/L 的琼脂粉,制成平板。富集培养基的组成:牛肉膏 3.0 g/L,蛋白胨 10.0 g/L, NaCl 5.0 g/L。

供试土壤为黑土,采自东北农业大学阿城试验基地。采集 0~20 cm 表层土,去除碎石、枯叶等杂物,自然风干,过 2 mm 筛备用。供试土样未检出 PAM,可认为不含 PAM,其基本理化性质为 pH 值 6.64,速效磷含量 25.60 mg/kg,速效钾含量 164.20 mg/kg,有机质含量 28.10 g/kg。

供试蚯蚓为赤子爱胜蚓 (*Eisenia foetida*),采自黑龙江省双城市良顺生物科技有限公司。试验选择形态大小均匀、有明显环带的成蚓。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种的筛选 目前 PAM 是国内外水处理领域使用量最大的水处理剂,主要用于水和污水的预沉淀及污泥的增稠和脱水^[15]。所以本试验采用污泥作为分离 PAM 降解菌的来源。将采集的 10 g 污泥溶于 90 mL 无菌蒸馏水中,30 ℃、140 r/min 于摇床中振荡培养 3 h 后,将其稀释成 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 的悬浊液。将每个稀释度的悬浊液分别抽取 0.2 mL 于以 PAM 作为唯一氮源的选择性固体培养基中,每个稀释度作 3 个平行试验,在 30 ℃ 恒温培养箱中培养 5 d。

待平板长出菌落,选择生长状况良好且有明显性状差异的菌落,于牛肉膏蛋白胨固体培养基中划线纯化。对纯化后的菌株进行平板胁迫驯化^[16],使选择性培养基中的 PAM 浓度提高为 500 mg/L,将分离出的菌株接种到平板上驯化,3 次平行试验,于 30 ℃ 培养 5 d 后将各个菌株重新接到 PAM 浓度为 700 mg/L 的选择培养基中继续驯化,以此类推逐级增加 PAM 浓度,依次为 1 000、1 500、2 000 mg/L。最后挑选生长速度快、长势好的菌株,接入牛肉膏蛋白胨斜面培养基中培养 2 d,4 ℃ 保存备用。

将筛选出的菌株单独及复合接种到新鲜的选择性液体培养基中,30 ℃ 培养 10 d,观察 PAM 降解情况。

1.2.2 PAM 优势降解菌的鉴定 降解菌 16S rDNA 序列测定由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。采用 16S rDNA 序列测定法对菌株 DNA 进行提取、扩增及序列测定。所得结果通过 BLAST 在线工具与 GenBank 中的核酸数据进行序列搜索比对,初步鉴定菌株。

1.2.3 处理方法 PAM 作为一种常用的水处理剂,在污泥脱水前的投加量一般为 3~5 mg/g 干污泥,对于一些沉降性能差的污泥则需要更高的投加量^[17]。污泥脱水过程中大量的絮凝剂被转移到泥饼中,与此同时污泥中含有的大量 PAM 也会随着污泥农用被转移到土壤中。试验设计中 PAM 的初始污染浓度为 2、4、6 mg/g。

称取 300 g 土壤样品于 500 mL 广口瓶中,用纱布封口。为了消除土著微生物的影响,将装有土样的广口瓶于 121 ℃ 湿热灭菌 20 min。将溶于无菌水的 PAM 与土样充分搅拌均匀,使土壤初始 PAM 污染浓度分别为 2、4、6 mg/g,每个污染

浓度水平下设 4 个处理,CK 表示空白对照,E 表示只加入蚯蚓,B 表示只接种细菌,BE 表示接入蚯蚓和细菌,每个处理 3 次重复。加入蚯蚓的各处理分别加入 10 条成蚓,接种细菌的各处理分别加入 10 mL 菌悬液(PAM1、PAM5 2 种菌比例 1:1),其他处理接入同剂量的无菌水。试验中土壤水分维持在田间最大持水量的 60%,并定期补充水分。于 28 ℃ 恒温培养箱中培养 24 d。培养期间进行动态采样,每隔 4 d 进行 1 次破坏性采样。

1.2.4 土壤中 PAM 的提取与测定 PAM 是一种水溶性高分子材料,易吸附和保留水分,可以以任意比例溶于水,一般不溶于有机溶剂,因此本试验采用水洗提取法从土样中分离 PAM。先把样品溶于蒸馏水中,用摇床振荡 2 h,使其均匀分散在水中,再用磁力搅拌器搅拌 10 min,然后以 4 000 r/min 的转速离心 15 min,取上清液待测。为了彻底地提取样品中的 PAM,须对样品中的 PAM 进行 3 次提取^[17]。并将所得上清液按一定比例稀释,然后采用淀粉-碘化镉分光光度法^[18]测定 PAM 的浓度。

1.3 数据处理

利用 Excel 和 SPSS 19.0 等统计软件对数据进行统计分析。采用 Duncan's 方法对不同处理间的数据进行差异显著性分析($\alpha=0.05$)。采用 Origin 8.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 PAM 降解菌的分离及鉴定

通过平板胁迫驯化法分离筛选出 2 株 PAM 优势降解菌,分别命名为 PAM1 和 PAM5。试验结果如图 1 所示,在以 PAM 为唯一氮源的选择培养基中,培养 7 d 时各处理中 PAM 的降解率达到稳定,PAM1、PAM5 菌株对 PAM 的降解率分别为 28.1%、30.8%,PAM1 和 PAM5 进行 1:1 复配对 PAM 的降解率能够达到 37.7%,所以采用 PAM1 与 PAM5 菌株 1:1 复配进行后续试验。经测序后获得 PAM1 菌株 1 450 bp 的 16S rDNA 序列,序列在 GenBank 中进行 BLAST 比对后发现,与 *Comamonas kerstersii* 相似度达到 99%;PAM5 菌株 1 437 bp 的 16S rDNA 序列通过 BLAST 与 GenBank 中核酸数据进行序列搜索比对发现,它与 *Comamonas terrigena* 的相似度达到 98%。

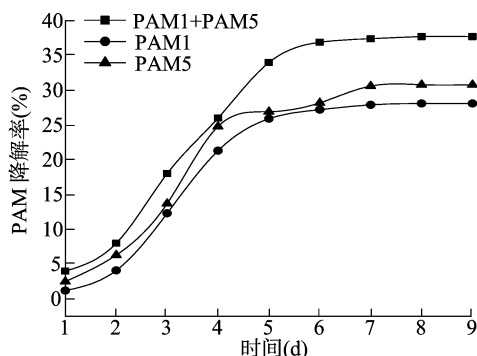


图1 PAM1、PAM5 及 PAM1 与 PAM5 复配对 PAM 的降解

2.2 同一浓度下蚯蚓与细菌对土壤中 PAM 降解的动态影响

本试验研究土壤中 3 种不同 PAM 初始污染浓度下各处理(CK、B、BE 和 E)对 PAM 降解的动态影响。从图 2 可以看出,土壤中 PAM 的初始污染浓度为 2 mg/g 时,各处理中 PAM

的降解率均随时间的增加而升高;BE 处理在培养 12 d 时, PAM 降解率提升得很快,之后 PAM 的降解率缓慢升高;B 处理和 E 处理的 PAM 降解率变化较为缓和;CK 处理 24 d 后,土壤中 PAM 降解率仅为 2.94%,显著低于其他处理;BE 处理中同时段 PAM 的降解率始终高于其他处理,B 处理次之。结果表明,筛选出的降解菌在去除土壤中 PAM 的过程中起主要作用,同时蚯蚓可以进一步促进 PAM 降解菌对土壤中 PAM 的降解。这是由于微生物本身的移动性小,蚯蚓可以成为散布微生物的工具,蚯蚓体壁可附着微生物,伴随蚯蚓的取食、排泄和挖掘活动,给微生物的传播提供了条件。此外微生物降解有机污染物的过程实质上是还原物质失去电子的氧化过程,而微生物利用分子氧作为末端电子受体时,污染物被降解得最彻底(分解产物为 CO₂ 和 H₂O),蚯蚓的挖掘和活动能很好地改善土壤通气,为微生物降解有机污染物提供良好的通气条件。

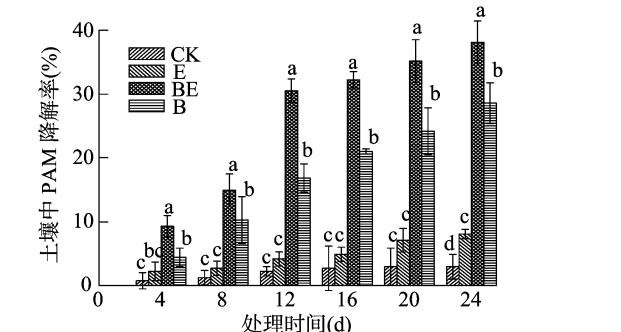


图2 土壤中初始PAM 污染浓度为 2 mg/g 时 PAM 降解的动态变化

当土壤中 PAM 的初始污染浓度为 4 mg/g 时,各处理降解率比较规律地提升;培养后期(12 ~ 24 d),E 处理中 PAM 降解率显著高于 CK 处理,这表明蚯蚓自身可能有促进土壤中 PAM 降解的能力;培养 24 d 后,各处理间 PAM 降解率差异显著且排序为 BE > B > E > CK (图 3)。

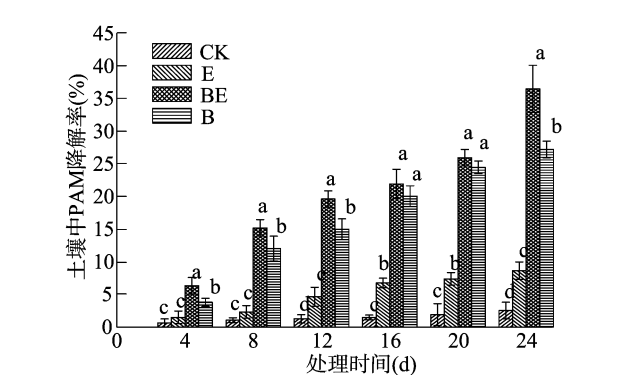


图3 土壤中初始PAM 污染浓度为 4 mg/g 时 PAM 降解的动态变化

在土壤中 PAM 的初始污染浓度为 6 mg/g 时,培养 24 d 后 BE 和 B 处理的降解率要比其他处理高 ($P < 0.05$);BE 和 B 处理在培养 12 d 时,降解率都有显著的提高,PAM 的减少主要发生在培养 0 ~ 12 d 时段,之后 PAM 的降解速率减缓;此外,对于未接种 PAM 降解菌的 CK 和 E 处理中,PAM 降解速度较为缓和(图 4)。

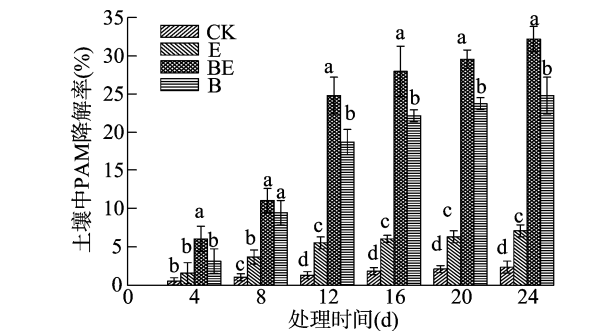


图4 土壤中初始 PAM 污染浓度为 6 mg/g 时 PAM 降解的动态变化

2.3 不同 PAM 污染浓度下蚯蚓与细菌对 PAM 降解的影响

培养 24 d 后,不同污染浓度下土壤中 PAM 的降解率见表 1,可见在 3 种污染浓度(2、4、6 mg/g)下,CK 处理 PAM 的降解率均为最低,其他处理 PAM 降解率均显著高于对照组,其中 BE 处理对 PAM 的降解率最高,分别为 38.24%、36.50%、32.28%,与 CK 处理相比,分别提高了 35.30%、33.97%、29.90 百分点;B、BE 处理与 E 处理相比也都存在显著差异 ($P < 0.05$);各处理对土壤中 PAM 的降解效果排序依次为 BE > B > E > CK。研究表明,单独加入蚯蚓、细菌以及同时接入蚯蚓和细菌都能显著促进土壤中 PAM 的降解。接种细菌以及同时接入细菌和蚯蚓的处理比单独接入蚯蚓处理的促进作用更加显著。处理 BE 和 B 中,随着土壤中 PAM 初始污染浓度的增加,对 PAM 的降解率均有下降。可能是因为 PAM 浓度过高影响了土壤的透气性,也易引起土壤板结,不利于蚯蚓的活动与呼吸,同时影响了降解菌的繁殖及扩散。处理 E 中,随污染浓度的增加,对 PAM 的降解率产生波动。

| 处理 | PAM 的降解率 (%) | | |
|--------------|---------------|---------------|---------------|
| | 2 mg/g | 4 mg/g | 6 mg/g |
| 对照 (CK) | 2.94 ± 1.95d | 2.53 ± 1.27d | 2.38 ± 0.79d |
| 接种蚯蚓 (E) | 8.09 ± 0.74c | 8.65 ± 1.32c | 7.14 ± 0.79c |
| 接种细菌和蚯蚓 (BE) | 38.24 ± 3.37a | 36.50 ± 3.60a | 32.28 ± 1.65a |
| 接种细菌 (B) | 28.68 ± 3.21b | 27.22 ± 1.27b | 24.87 ± 2.42b |

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

微生物在降解 PAM 过程中起着举足轻重的作用,主要是依靠它们产生特定酶,以 PAM 为营养源,在菌株生长及代谢过程中,将 PAM 降解为小分子有机物和无机物。目前有关 PAM 降解的研究主要针对液相如污水、采油废水。魏利等从油田采出液中分离出硫酸盐还原性 PAM 降解菌,20 d 时对液相中的 PAM 降解率为 61.2%^[19-21]。包木太等从活性污泥中分离出的海球菌属 PAM 降解菌,在最佳条件下 5 d 对溶液相中的 PAM 降解达到 45.23%^[20]。本研究表明,筛选出的 2 株降解菌 1:1 复合培养 7 d 对 PAM 的降解率为 37.7%,而仅向土壤中外源添加 PAM 降解菌(处理 B)对土壤中不同 PAM 初始浓度的降解率分别为 28.68%、27.22%、24.87%,低于溶液相中 PAM 的降解率。这是由于土壤中通气条件不佳、含氧量低、微生物在土壤中扩散相对不充分等原因所致^[21-22]。

蚯蚓作为土壤动物最大的常见类群之一,是土壤可持续

利用的关键生物种,是生态系统的重要物质分解者,在促进土壤养分循环和改善土壤性状方面发挥着巨大作用。目前,利用蚯蚓等土壤动物辅助微生物修复土壤有机污染物技术是一种新型原位生态修复技术^[23-24]。本试验表明,当土壤中PAM浓度为2、4、6 mg/g时,BE处理对PAM的降解率分别为38.24%、36.50%、32.28%,与B处理相比,分别提高了9.56、9.28、7.41个百分点,说明蚯蚓可以显著提高微生物对土壤中PAM的降解率。与此类似,Asgharnia等研究表明,蚯蚓可以显著促进非降解菌对土壤中菲的降解^[25]。Li等研究发现,蚯蚓能够使土壤中五氯酚(PCP)降解菌的数量增加,从而促进对PCP的降解^[26]。蚯蚓在土壤中的运动、取食及穿孔作用可以改善土壤物理结构,增加土壤的透气性和透水性,使更多的氧进入土壤中,这就为提供更多降解过程所必需的终端电子受体提供了可能^[27]。从土壤的结构和形状方面分析,通过蚯蚓在土壤中的生物扰动作用,可以使土壤不断混合,有助于微生物的传播和扩散,还能增加微生物与污染物接触的机会^[28-29]。有研究表明,蚯蚓能通过取食行为,将有机污染物从土壤表面转移^[10]。除此之外,蚯蚓在土壤中活动的同时会排出富含营养成分的蚯蚓粪,还会以黏蛋白、氨和尿素等形式分泌一些黏性物质,这些排泄物和分泌物不仅可以增强微生物的活性,还可增加它们的生物量^[24]。

筛选出2株PAM降解菌,通过16S rDNA序列分析,初步鉴定PAM1为*Comamonas kerstersii*,PAM5为*Comamonas terrigena*。同一PAM初始浓度,各处理中PAM的降解率均随时间的增加而升高,培养24 d后对PAM的降解率差异显著,降解效果依次为BE>B>E>CK。表明单独加入蚯蚓、接种细菌以及同时接入蚯蚓和细菌都能显著促进土壤中PAM的降解。接种细菌及同时接入蚯蚓和细菌的处理比单独加入蚯蚓处理的促进作用更显著。蚯蚓与细菌的协同作用能进一步促进土壤中PAM的降解。不同PAM初始浓度下,CK、BE和B处理对PAM的降解随着初始污染浓度的增加而降低,E处理对PAM的降解率随污染浓度的增加仅产生波动。

参考文献:

- [1] 张学佳,纪巍,康志军,等. 聚丙烯酰胺降解的研究进展[J]. 油气田环境保护,2008,8(2):41-45.
- [2] 赵意平,宋隼森,曹文钟. 微生物降解含聚丙烯酰胺污水的研究进展[J]. 化学工业与工程技术,2011,32(1):25-29.
- [3] 韩昌福,李大平,王晓梅. 聚丙烯酰胺生物降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报. 2005,11(5):648-650.
- [4] 包木太,彭杰,陈庆国. 微生物对聚丙烯酰胺降解作用的研究进展[J]. 化工进展,2011,30(9):2080-2086.
- [5] 郭幸,翁丽青,金杭,等. 阳离子聚丙烯酰胺的生物可降解性能的研究[J]. 造纸化学品,2012,24(5):5-10.
- [6] 王效伟. 聚丙烯胺在污泥和土壤中降解及其对黑麦草和土壤酶的影响研究[D]. 泰安:山东农业大学,2013.
- [7] 郑国林. 丙酰胺降解菌的筛选及降解效果研究[D]. 扬州:扬州大学,2012.
- [8] Bao M, Chen Q G, Li Y M, et al. Biodegradation of partially hydrolyzed polyacrylamide by bacteria isolated from production water after polymer flooding in an oil field[J]. Hazard Mater,2010,184(1/2/3):105-110.
- [9] Wen Q X, Chen Z Q, Zhao Y, et al. Biodegradation of polyacrylamide by bacteria isolated from activated sludge and oil-contaminated soil[J]. Hazard Mater,2010,175(1/2/3):955-959.
- [10] 胡森,陈欢,田蕾,等. 蚯蚓对细菌降解土壤中菲的作用[J]. 应用生态学报,2008,19(1):218-222.
- [11] 丁亦男,王帅. 蚯蚓在土壤生态系统中的重要作用研究[J]. 现代农业科技,2010(16):281-282.
- [12] 高岩,骆永明. 蚯蚓对土壤污染的指示作用及其强化修复的潜力[J]. 土壤学报,2005,42(1):140-148.
- [13] 胡森. 蚯蚓及蚓粪对假单胞菌降解土壤中菲的影响[D]. 南京:南京农业大学,2007.
- [14] Matsuoka H, Ishimura F, Takeda T, et al. Isolation of polyacrylamide-degrading microorganisms from soil[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering,2002,7(5):327-330.
- [15] 陈静,陈士才,许建华,等. 聚丙烯酰胺预处理自来水厂污泥[J]. 中国给水排水,2004,20(9):37-39.
- [16] 李淑芹,韦微,包龙,等. 聚丙烯酰胺降解菌的分离鉴定及其降解特性[J]. 东北农业大学学报,2013,44(5):24-28.
- [17] 盛倩,吴星五,刘晨,等. 脱水污泥及其堆肥过程中聚丙烯酰胺的检测[J]. 中国给水排水,2010,26(18):124-127.
- [18] 关淑霞,范洪富,段吉国,等. 聚丙烯酰胺质量浓度的测定-淀粉-碘化镉法[J]. 大庆石油学院学报,2007,31(2):110-112.
- [19] 魏利,马放. 一株聚丙烯酰胺降解菌的分离鉴定及其生物降解[J]. 华东理工大学学报,2007,33(1):57-60.
- [20] 包木太,王娜,陈庆国,等. 活性污泥中细菌对聚丙烯酰胺的生物降解研究[J]. 农业环境科学学报,2009,28(4):833-838.
- [21] Margesin R, Zimmerbauer A, Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities[J]. Chemosphere,2000,40(4):339-346.
- [22] Tyagi M, da Fonseca M M R, de Carvalho C C C R. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes[J]. Biodegradation,2011,22(2):231-241.
- [23] 黄初龙,张雪萍. 蚯蚓环境生态作用研究进展[J]. 生态学杂志. 2005,24(12):1466-1470.
- [24] 李洁明,孙红文,李阳,等. 蚯蚓辅助微生物修复芘污染土壤[J]. 环境科学学报,2008,28(9):1854-1860.
- [25] Asgharnia H, Jafari A J, Kalantary R R, et al. Influence of bioaugmentation on biodegradation of phenanthrene-contaminated soil by earthworm in lab scale[J]. Journal of Environmental Health Science and Engineering,2014,12(1):150-159.
- [26] Li X M, Lin Z, Luo C L, et al. Enhanced microbial degradation of pentachlorophenol from soil in the presence of earthworms:evidence of functional bacteria using DNA-stable isotope probing[J]. Soil Biology & Biochemistry,2015,81:168-177.
- [27] 田蕾,陈小云,胡森,等. 蚯蚓及蚓粪对白腐真菌降解土壤中菲的动态影响[J]. 农业环境科学学报,2008,27(1):221-225.
- [28] Lin Z, Li X M, Li Y T, et al. Enhancement effect of two ecological earthworm species (*Eisenia foetida* and *Amyntas robustus* E. Perrier) on removal and degradation processes of soil DDT[J]. Journal of Environmental Monitoring,2012,14(6):1551-1558.
- [29] Shan J, Xu J, Zhou W Q, et al. Enhancement of chlorophenol sorption on soil by geophagous earthworms (*Metaphire guillelmi*) [J]. Chemosphere,2011,82(2):156-162.