

## 多环芳烃污染土壤的植物-微生物联合修复初探<sup>①</sup>

刘魏魏<sup>1,2,3</sup>, 尹睿<sup>1,2\*</sup>, 林先贵<sup>1,2</sup>, 张晶<sup>1,2</sup>, 陈效民<sup>3</sup>, 李占胜<sup>3</sup>, 李炬桢<sup>1,2</sup>, 肖艳平<sup>1,2</sup>

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 南京 210008; 3 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

**摘要:** 在温室盆栽条件下, 通过种植紫花苜蓿单独或联合接种菌根真菌 (*Glomus caledonium* L.) (AM) 和多环芳烃专性降解菌 (DB), 研究了利用植物-微生物强化修复多环芳烃 (PAHs) 长期污染土壤的效果。试验结果表明, 接种菌根真菌和 PAHs 专性降解菌能促进紫花苜蓿的生长和土壤中 PAHs 的降解。经过 90 天修复试验, 种植紫花苜蓿接种 AM、DB 和 DB+AM 处理的 PAHs 的降解率分别为 47.9%、49.6%、60.1%, 均高于只种植紫花苜蓿的对照处理 (CK) (21.7%)。另外, 随着 PAHs 苯环数的增加, 其平均降解率逐渐降低, 但是接种 PAHs 专性降解菌能够提高 4 环和 5 环 PAHs 的降解率。同时也发现土壤中脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量越高的处理, 土壤 PAHs 的降解率也越高, 这也是种植紫花苜蓿接种微生物能够有效促进土壤 PAHs 降解的原因。

**关键词:** 多环芳烃; 污染土壤; 紫花苜蓿; 菌根真菌; 多环芳烃专性降解菌

**中图分类号:** X172; X53

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是 2 个或 2 个以上的芳香环稠合在一起的一类惰性强、性质稳定的持久性有机污染物。低环的 PAHs (< 4 环) 有剧烈的毒性, 高环的 PAHs ( $\geq 4$  环) 具有强致畸性、致突变性<sup>[1-3]</sup>。土壤中的 PAHs, 随着苯环数的增大, 其降解速率越来越低。低环的 PAHs (萘、菲、蒽、芘) 在土壤中能较快地被降解, 存在的时间较短; 而高环的 PAHs 则难以降解, 在土壤中较稳定, 严重危害农产品安全和人类健康<sup>[4-5]</sup>。很多国家已把 PAHs 列入优先控制有毒有机物黑名单。修复 PAHs 污染土壤尤其是高环 PAHs 污染土壤已成为目前国内外土壤与环境学界共同关注的热点之一<sup>[6-7]</sup>。

植物-微生物联合修复 PAHs 污染土壤是土壤生物修复研究的新领域<sup>[8]</sup>。植物修复技术因其具有成本低、无二次污染和适用于大面积场地修复等特点而受到广泛关注, 其去除有机污染物的机理主要是通过根系分泌物刺激根际特定微生物功能群落数量的增加以及其代谢作用达到降解的目的<sup>[9-10]</sup>。然而对于 PAHs 重度污染土壤, 土壤中微生物群落受到其毒害影响, 相应微生物的数量较少, 植物修复的修复效率 ([PAHs 初始浓度 - 修复后残留浓度]/初始浓度  $\times 100\%$ ) 相对较低,

大约在 9.1%~23.9% 左右<sup>[11]</sup>。因此, 可在利用植物进行污染土壤修复的同时, 向土壤中接种细菌或真菌, 增加微生物的数量提高植物修复有机污染物效果<sup>[8,12]</sup>。其中专性降解菌对 PAHs 具有高效广谱降解能力, 同时具有环境友好等优点而备受青睐; 真菌一方面在改善植物营养、提高抗病抗逆能力方面具有显著作用<sup>[13]</sup>, 通过综合利用土壤菌根真菌、植物及其相互作用根际环境来有效降解土壤中的有机污染物<sup>[14]</sup>。另一方面真菌能产生独特的酶, 降解不能被细菌单独降解的 PAHs<sup>[15]</sup>, 在土壤修复中具有特有的优势。植物与特殊的菌根真菌或专性降解菌群协同作用, 增加对污染物的吸收和降解将是一个很有价值的研究方向<sup>[8]</sup>, 然而有关联合修复作用的研究还很少。此外, 用与植物共生的菌根真菌和专性降解菌联合作用, 可能会进一步促进已被 PAHs 长期污染土壤中 PAHs 尤其是高环 PAHs 的降解, 有关这方面的研究更鲜见报道。

目前, 关于修复 PAHs 污染土壤大多是将 PAHs 污染物添加到土壤中进行模拟研究<sup>[8,16-18]</sup>, 因为新添加污染物与土壤残留污染物的活性往往存在差异, 故直接针对 PAHs 长期污染农田土壤进行修复可能更具有研究价值。鉴于此, 本试验以 PAHs 长期污染农田土

删除的内容: 的

①基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 重点项目 (2007AA061101) 和国家自然科学基金项目 (40801091) 资助。

\* 通讯作者 (ryin@issas.ac.cn)

作者简介: 刘魏魏 (1985—), 女, 山东德州人, 硕士研究生, 主要从事污染土壤的微生物修复研究。E-mail: blww1221@163.com

壤为研究材料,重点研究了紫花苜蓿-菌根真菌-PAHs 专性降解菌对 PAHs 的降解及其与土壤酶活性、PAHs 降解菌数量的关系,以期为农田土壤中 PAHs 污染的植物-微生物联合原位修复技术提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤 供试土壤采自江苏无锡某由于多年化工废水 PAHs 污染的农田。多点采集表层土壤(0~20 cm),检出植物根系、石砾等残留物,过 2 mm 不锈钢筛,充分混匀,供盆栽试验用。同时测定土壤基本理化性质,土壤的 pH(H<sub>2</sub>O)6.4,有机质 19.2 g/kg,全 N 1.3 g/kg,全 P 0.5 g/kg,全 K 14.2 g/kg,速效 P 3.6 mg/kg,速效 K 86.0 mg/kg,PAHs 本底值为 13.5 mg/kg。

1.1.2 供试植物 紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.),紫花苜蓿种子从江苏省农业科学院牧草研究所购得。

1.1.3 供试丛枝菌根真菌 苏格兰球囊霉 (*Gtormts caledonium* L.),由中国科学院南京土壤研究所微生物研究室提供,是从河南封丘黄潮土中分离所得,菌剂以绿豆 (*Phaseolus radiatus* L.) 为宿主植物扩大培养的孢子-菌丝-根系-土壤混合物。

1.1.4 供试 PAHs 专性降解菌 以 4 环的芘和 5 环的苯并芘为污染物,采用液体培养基进行分离筛选,从污染土壤中分离出来的具有高效 PAHs 降解能力的土著细菌芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 和黄杆菌 (*Flavobacterium* sp.) 作为供试 PAHs 专性降解菌,菌剂以稻糠、玉米芯、麸皮、生石灰、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 等为载体材料扩大培养的混合物,由中国科学院沈阳应用生态研究所提供。

1.1.5 化学品 菲 (Phenanthrene)、苯并[a]芘 (Benzo[a]pyrene)、蒽 (Anthracene)、芴 (Fluorene)、二苯并噻吩 (Dibenzothiophene)、二氯甲烷、正己烷、环己烷、乙腈均为 HPLC 级,其他试剂为分析纯。

### 1.2 试验设计与实施

试验处理:①只种植紫花苜蓿 (CK);②种植紫花苜蓿,接种菌根真菌 (AM);③种植紫花苜蓿,接种 PAHs 专性降解菌 (DB);④种植紫花苜蓿,接种 PAHs 专性降解菌和菌根真菌 (DB+AM)。试验共 4 个处理,每个处理 5 次重复。试验采用底部有孔的盆钵,PAHs 专性降解菌按 30 g/kg 用量与土壤混合均匀,

装盆,每盆装土 3 kg。②、④处理先向盆中装 2.5 kg 供试土壤,在土壤表面均匀洒入 40 g/kg 的 AM 菌根真菌,然后再在上面装 500 g 土壤。每盆播种 20 粒紫花苜蓿种子,出苗 10 天后间苗,每盆留 10 株。盆栽试验在温室中进行。在培养过程中的第 30、60、90 天时分别取样。每盆用小型不锈钢土钻随机采取 3 点,组成混合土样。将所采集的土壤样品分成两份,一份土样于 4℃ 保存,以供脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量的测定分析用,另一份土样风干,过 20 目筛,供 PAHs 含量分析用。

### 1.3 试验方法

1.3.1 植物生物量测定 植物生物量采用常压恒温干燥法测定<sup>[19]</sup>。

1.3.2 PAHs 的提取与测定 土壤中 PAHs 采用二氯甲烷索式提取<sup>[20]</sup>,HPLC 测定<sup>[21]</sup>,测试条件如下:色谱柱为 4.6 mm × 250 mm 烷基 C<sub>18</sub> PAHs 专用柱;流动相为色谱纯乙腈/水;流速为 1 ml/min;柱温为 30℃;进样量为 10 μl。

1.3.3 土壤中脱氢酶活性的测定 采用三苯基四氮唑氯化物 (TTC) 法测定<sup>[22]</sup>。

1.3.4 PAHs 降解菌数量的测定 采用改进的 PAHs 降解菌计数板法 (MPN 法)<sup>[23]</sup>。

### 1.4 数据处理

采用 Excel2003 制图,采用 SPSS16.0 进行显著性分析 (F 检验, p<0.05)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理紫花苜蓿的生物量

经过 90 天培养,紫花苜蓿的茎叶和根的生物量如图 1 所示。4 个处理紫花苜蓿的生物量顺序为:CK < AM < DB < DB+AM。AM 处理紫花苜蓿生物量大于 CK 处理,但没有显著差异 (p<0.05);DB、DB+AM 处理紫花苜蓿生物量显著大于 CK 处理 (p<0.05)。在不接种微生物的情况下植物长势良好,说明紫花苜蓿对土壤中的 PAHs 有一定的耐受性,但接种菌根真菌 (AM) 和 PAHs 专性降解菌 (DB) 能增加紫花苜蓿的生物量,比 CK 处理分别高 4.2% 和 20.1%。PAHs 专性降解菌对紫花苜蓿的促进作用强于菌根真菌。菌根真菌与 PAHs 专性降解菌联合作用对紫花苜蓿生长的促进效应 (比 CK 高 36.4%) 强于两者分别单独处理,说明两者在促进紫花苜蓿生长方面存在交互作用。接种微生物促进了土壤中的 PAHs 降解,减少了其对紫花苜蓿的毒害,促进了紫花苜蓿生长。

删除的内容:降解

删除的内容:土壤

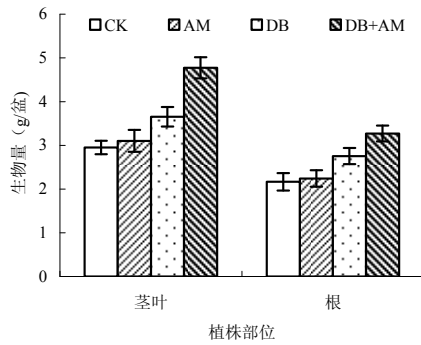


图 1 不同处理土壤中紫花苜蓿的生物量

Fig. 1 Biomass of alfalfa growing in soil contaminated with PAHs

## 2.2 土壤中 PAHs 含量的动态变化和降解率

紫花苜蓿生长过程中,不同处理土壤中 PAHs 含量动态变化情况如图 2 所示。随着培养时间的延长土壤中 PAHs 含量逐渐降低。同一时间内,各个处理土壤 PAHs 含量顺序为:CK>AM>DB>DB+AM。接种菌根真菌和 PAHs 专性降解菌能明显促进土壤 PAHs 含量的降低 ( $p<0.05$ )。

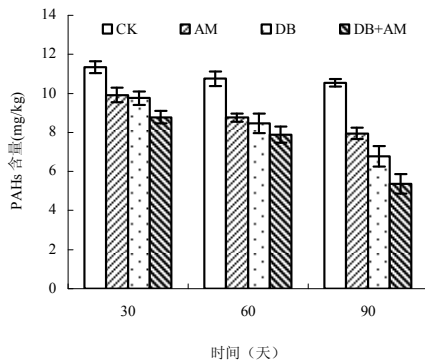


图 2 土壤中 PAHs 含量动态变化

Fig. 2 Dynamics of PAHs contents in soil

培养结束时,不同处理土壤 PAHs 降解率如图 3,与本底值相比 (13.5 mg/kg),只种紫花苜蓿的 CK 处理也能使土壤中 PAHs 的量下降,其降解率为 21.7%,这主要是土著微生物在根系分泌物刺激下降解 PAHs 的结果。外源接种菌根真菌和 PAHs 专性降解菌能提高其降解速度。AM、DB 处理的 PAHs 降解率分别是 47.9%、49.6%,其中接种 PAHs 专性降解菌对 PAHs 的降解率强于接种菌根真菌。DB+AM 处理的降解效

率最高达 60.1%,强于菌根真菌和 PAHs 专性降解菌单独处理,两者在促进 PAHs 降解方面存在交互作用。

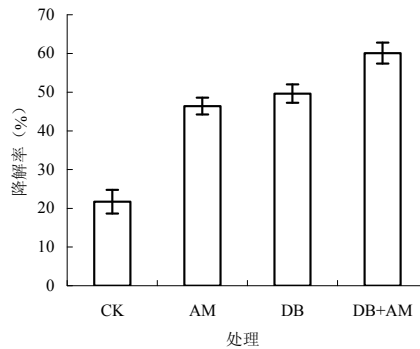


图 3 不同处理土壤中 PAHs 的降解率

Fig. 3 Degradation rates of PAHs under different treatments

## 2.3 土壤中 PAHs 分环含量和降解率

土壤中本底 PAHs 的分环含量顺序为:4 环>5 环>6 环>3 环>2 环,占本底值 PAHs 总量分别是 54.9%、30.0%、9.7%、5.2%、0%。种植紫花苜蓿 90 天后,不同处理土壤中 PAHs 的分环含量如图 4 所示,同一环数不同处理土壤 PAHs 含量为:CK>AM>DB>DB+AM。接种菌根真菌和 PAHs 专性降解菌能明显加快土壤不同 PAHs 含量的降低 ( $p<0.05$ )。双接种处理土壤中各环 PAHs 含量最低,两种菌剂协同修复作用明显。

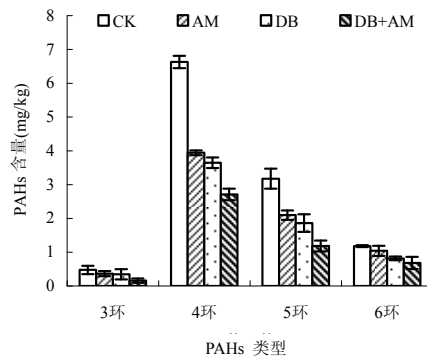


图 4 土壤中不同环数 PAHs 含量

Fig. 4 Contents of different-ring PAHs in soil

从图 5 中可以看出,不同环数土壤 PAHs 降解率不同。3 环 PAHs 降解率为 32.6%~73.0%,平均值为 51.0%;4 环 PAHs 降解率为 27.1%~63.3%,平均值为

47.6%；5 环 PAHs 降解率为 21.5%~70.7%，平均值为 47.1%；6 环 PAHs 降解率为 10.3%~48.3%，平均值为 29.1%。总体上，随着苯环数的增加，PAHs 的平均降解率越低。但接种 PAHs 专性降解菌能够使部分高环 PAHs 的降解率高于低环 PAHs。DB 处理土壤中 4 环和 5 环 PAHs 的降解率比 3 环 PAHs 的降解率分别高 1.6%、2.6%；DB+AM 处理土壤中 5 环 PAHs 的降解率比 4 环 PAHs 的降解率高 7.4%。接种 PAHs 专性降解菌能够提高 4 环和 5 环 PAHs 的降解率。

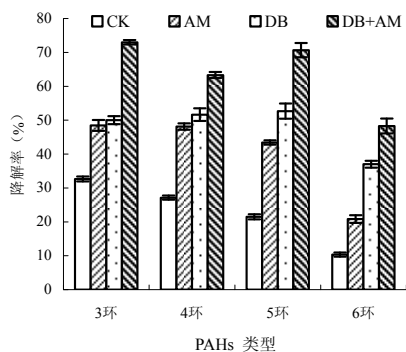


图 5 土壤中不同环数 PAHs 的降解率

Fig. 5 Degradation rates of different-ring PAHs in soil

### 2.4 土壤脱氢酶活性动态变化

在 90 天培养过程中，土壤脱氢酶活性变化情况如图 6 所示，各处理条件下的土壤脱氢酶活性随培养时间的延长而逐渐升高。同一时间内，各个处理土壤脱氢酶活性顺序为：CK < AM < DB < DB+AM。紫花苜蓿根际为土著微生物提供生存场所和营养，促进其生长，提高了脱氢酶活性；接种菌根真菌可为微生物提

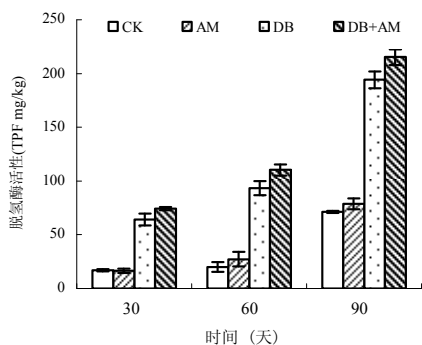


图 6 土壤脱氢酶活性动态变化

Fig. 6 Dynamics of soil dehydrogenase activity

供生态位和分泌物，增加了微生物数量提高了脱氢酶活性，但与 CK 没有显著差异 ( $p > 0.05$ )；接种 PAHs 专性降解菌显著提高了土壤脱氢酶活性 ( $p < 0.05$ )；双接种处理极显著提高了土壤脱氢酶活性 ( $p < 0.01$ )。

### 2.5 土壤 PAHs 降解菌数量动态变化

土壤 PAHs 降解菌是指土壤中能降解 PAHs 的微生物，包括细菌、真菌等。PAHs 降解菌数量动态变化情况如图 7，可以看出土壤中原来存在一定数量的土著降解菌，不过数量很小。AM 处理土壤 PAHs 降解菌数量大于 CK 处理 ( $p < 0.05$ )。外源接种 PAHs 专性降解菌后，前 30 天土壤 PAHs 降解菌数量迅速增加，DB、DB+AM 处理增长两个数量级，显著高于 CK、AM 处理 ( $p < 0.05$ )。这可能是接种微生物后的 30 天内，微生物适应了环境，数量迅速增加。30 到 60 天时各处理 PAHs 降解菌数量有所下降，培养至第 90 天，各处理的 PAHs 降解菌数量又有一定程度的降低，可能与微生物生长周期有关。这与平立凤<sup>[24]</sup>研究的添加碳源刺激土壤 PAHs 降解的微生物数量动态变化趋势相似。

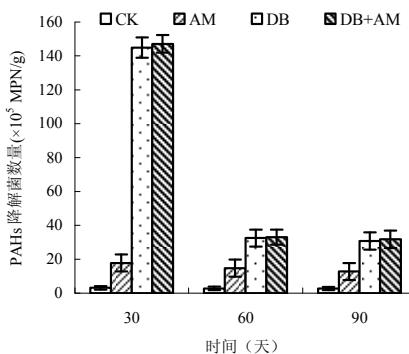


图 7 土壤中 PAHs 降解菌数量动态变化

Fig. 7 Dynamics of soil PAHs-degrading microorganisms

### 3 讨论

许多研究已经表明，紫花苜蓿通过根际效应可以有效刺激土壤根际土著微生物活性和数量的增加，从而有效促进土壤 PAHs 降解<sup>[25]</sup>。在 90 天试验中，种植紫花苜蓿可以实现 21.7% 的 PAHs 降解。不过这种修复过程还是相对缓慢的。接种菌根真菌能够促进土壤中 PAHs 的降解。Binet 等<sup>[26]</sup>研究了韭葱、玉米、黑麦草和三叶草接种菌根真菌 (*Glomus mosseae*) 后对 PAHs 的降解，认为菌根真菌能增加 PAHs 的生物可利用性，提高吸收率与矿化率。刘世亮等<sup>[17]</sup>研究了种植紫花苜蓿在接种和不接种菌根真菌 (*Glomus caledonium* L.)

情况下对土壤中苯并[a]芘的降解。接种菌根真菌比不接种最大可提高 34% 的 B[a]P 降解。本研究也表明接种菌根真菌能促进土壤中 PAHs 的去除。在 90 天试验中, 接种菌根真菌对 PAHs 降解率为 47.9%, 高于单独种植紫花苜蓿。其原因可能有: 菌根真菌与紫花苜蓿共生有利于增加紫花苜蓿的抗逆性, 菌根真菌对 PAHs 的直接吸附以及创造有利 PAHs 降解细菌的生态位<sup>[27]</sup>, 使菌根根际维持较高的微生物种群密度和生理活性, 利于多种菌落的形成, 共同降解污染物。

PAHs 专性降解菌表现出强化修复 PAHs 污染土壤的作用。邓欢欢等<sup>[28]</sup>研究投加外源降解菌可以促进生物降解, 达到生物强化的目的。赵飞等<sup>[29]</sup>研究表明降解菌对堆肥中 PAHs 具有降解作用。试验结果表明, 降解菌的加入能明显地提高 PAHs 的降解率。本研究也表明 PAHs 专性降解菌能明显促进紫花苜蓿对土壤中 PAHs 的降解, 在 90 天试验中, 接种 PAHs 专性降解菌对 PAHs 降解率达到 49.6%, 主要是①微生物在生长过程中以 PAHs 为碳源和能源或把 PAHs 与其他有机质共代谢而降解 PAHs; ②PAHs 专性降解菌与紫花苜蓿互利作用促进了 PAHs 的降解。另外, PAHs 专性降解菌与菌根真菌联合作用对 PAHs 降解率最高达到 60.1%, 两者协同修复作用明显, 不过有关其协同修复的机理还需要进一步研究。

许多细菌、真菌都具有降解 PAHs 的能力。一般来说, 随 PAHs 苯环数量的增加, 其降解速率降低。2 环和 3 环 PAHs 比较容易被生物降解, 而 4 环、5 环和 6 环 PAHs 却很难被生物降解。然而微生物对土壤中不同 PAHs 的降解效果并不一致。Wu 等<sup>[30]</sup>发现接种真菌 *Monilinia sp.* 的土壤 3 环的蒽和 5 环苯并[a]芘的降解效果要高于其他 PAHs。Potin 等<sup>[31]</sup>发现真菌 *Coniothyrium* 和 *Fusarium* 对土壤高分子量 PAHs 的降解效果要好于低分子量 PAHs。孙铁珩等<sup>[32]</sup>也报道了接种真菌对 4 环 PAHs 的降解有明显促进作用, 接种细菌明显提高部分 3 环和 5 环 PAHs 的降解率。本试验中, 随着 PAHs 苯环数的增加, 其平均降解率逐渐降低, 但是接种 PAHs 专性降解菌能够提高 4 环和 5 环 PAHs 的降解率, 这可能与 PAHs 专性降解菌是以 4 环的蒽和 5 环苯并芘为污染物从土壤中筛选的土著细菌有关。

土壤中酶活性的变化可以反映土壤中微生物降解有机污染物的能力。脱氢酶是土壤中重要的氧化还原酶, 在环状有机化合物的分解转化过程中起到重要的作用, 主要参与 PAHs 加氧化后形成中间产物转-二聚氢脱氢生成儿茶酚的过程<sup>[33]</sup>, 其活性的大小反映土壤对有机化合物降解能力的强弱。有研究报道, PAHs 的

降解率与土壤中脱氢酶活性、PAHs 降解菌显著正相关<sup>[34-35]</sup>。本研究得到相似的结果, 土壤中脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量越高, PAHs 的降解率越高。DB、DB+AM 处理土壤中脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量显著高于 CK 处理, 这也是 DB、DB+AM 处理显著促进 PAHs 总量降解的一个重要原因。所以植物-微生物联合修复与根际脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量有关, 接种微生物提高紫花苜蓿生物量, 增加根际微生物活性, 提高根际脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量, 可以增强污染土壤 PAHs 的修复能力。

## 4 结论

(1) 接种菌根真菌和 PAHs 专性降解菌可以促进紫花苜蓿生长, 增加紫花苜蓿生物量。

(2) 接种菌根真菌, 增加了紫花苜蓿根际土壤微生物数量和活性, 促进了土壤 PAHs 的降解, AM 处理的降解率为 47.9%。接种 PAHs 专性降解菌, 增加了土壤微生物数量, 促进了土壤 PAHs 的降解, DB 处理的降解率为 49.6%。双接种菌根真菌、PAHs 专性降解菌明显促进土壤 PAHs 降解, 降解效率最高达 60.1%, 两种菌剂与紫花苜蓿根际协同修复作用明显。

(3) 随着 PAHs 苯环数的增加, 其平均降解率逐渐降低。接种 PAHs 专性降解菌能够提高 4 环和 5 环 PAHs 的降解率。

(4) 接种菌根真菌和 PAHs 专性降解菌, 提高了 PAHs 污染土壤中脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量, 促进了 PAHs 的降解。土壤脱氢酶活性和 PAHs 降解菌数量越高, 土壤 PAHs 的降解率也越高。

**致谢:** 感谢中国科学院沈阳应用生态所的台培东研究员提供 PAHs 专性降解菌菌株; 感谢中国科学院土壤研究所的王俊华老师、胡君利老师提供真菌菌株; 感谢中国科学院土壤研究所的安琼老师、赵玲老师在 PAHs 测定方面提供的指导和帮助。

## 参考文献:

- [1] Boonchan S, Britz ML, Stanley GA. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(3):1 007-1 019
- [2] 毛健, 骆永明, 滕应, 李振高. 一株副球菌对污染土壤中多环芳烃的降解研究. *土壤*, 2009, 41(3): 448-453
- [3] You WH, Dong XY, Qing ML, Ting LY. Accumulation and biodegradation of phenanthrene and fluoranthene by the algae

- enriched from a mangrove aquatic ecosystem. *Marine Pollution Bulletin*, 2008, 56(8): 1 400-1 405
- [4] Dugay A, Herrenkencht C, Czok M, Guyon F, Pages N. New procedure for selective extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in plants for gas chromatographic mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography A*, 2002, 958(1/2): 1-7
- [5] Antizar-Ladislao B, Lopez-Real J, Beck AJ. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in an aged coal-tar-contaminated soil using different in-vessel composting approaches. *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 137(3): 1 583-1 588
- [6] 高学晟, 姜霞, 区自清. 多环芳烃在土壤中的行为. *应用生态学报*, 2002, 13(4): 501-504
- [7] 许超, 夏北成. 土壤多环芳烃污染根际修复研究进展. *生态环境*, 2007, 16(1): 216-222
- [8] 程国玲, 李培军, 王凤友, 周启星, 台培东, 韩桂云, 张海荣. 多环芳烃污染土壤的植物与微生物修复研究进展. *环境污染治理技术与设备*, 2003, 4(6): 30-36
- [9] 范淑秀, 李培军, 巩宗强, 何娜, 张利红, 任婉侠, Verkhozina VA. 紫花苜蓿对多环芳烃菲污染土壤的修复作用研究. *环境科学*, 2007, 28(9): 2 080-2 084
- [10] Johnson DL, Maguire KL, Anderson DR, McGrath SP. Enhanced dissipation of chrysene in planted soil: The impact of a rhizobial inoculum. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(1): 33-38
- [11] Parrish ZD, Banks MK, Schwab AP. Effectiveness of phytoremediation as a secondary treatment for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in composted soil. *International Journal of Phytoremediation*, 2004, 6(2): 119-137
- [12] Huang XD, El-Alawi Y, Penrose DM, Glick BR, Greenberg BM. A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environmental Pollution*, 2004, 130(3): 465-476
- [13] 高彦征, 朱利中, 凌婉婷, 熊巍. 土壤和植物样品的多环芳烃分析方法研究. *农业环境科学学报*, 2005, 24(5): 1 003-1 006
- [14] 王发园, 林先贵, 周健民. 丛枝菌根与土壤修复. *土壤*, 2004, 36(3): 251-257
- [15] Braun-Lulleman A, Huttermann A, Majcherczyk A. Screening of ectomycorrhizal fungi for degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1999, 53(1): 127-132
- [16] 李春玉, 石利利, 单正军, 孔德祥. 苯并[a]芘和二苯并[a, h]蒽的土壤降解特性及其影响因素. *生态与农村环境学报*, 2008, 24(4): 83-86
- [17] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 李华, 吴龙华, 邢维芹, 宋静, 曹志洪. 苯并[a]芘污染土壤的丛枝菌根真菌强化植物修复作用研究. *土壤学报*, 2004, 41(3): 336-342
- [18] 李秋玲, 凌婉婷, 高彦征, 卢晓丹, 曾跃春. 丛枝菌根对土壤中多环芳烃降解的影响. *农业环境科学学报*, 2008, 27(5): 1 705-1 710
- [19] 中国土壤学会. *土壤农业化学分析方法*. 北京: 中国农业科技出版社, 2000
- [20] 陈晓秋, 苏鹏起, 林湊清. 废水及土壤中多环芳烃监测时样品的预处理. *中国环境监测*, 1994, 10(6): 27-28
- [21] 宋玉芳, 区自清, 孙铁珩. 土壤、植物样品中的多环芳烃 (PAHs) 分析方法研究. *应用生态学报*, 1995, 6(1): 92-96
- [22] 关松萌编著. *土壤酶及其研究法*. 北京: 农业出版社, 1986
- [23] Wrenn BA, Venosa AD. Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable number procedure. *Canadian Journal of Microbiology*, 1996, 42(3): 252-258
- [24] 平立凤. 长江三角洲地区典型土壤环境中多环芳烃污染、化学行为和生物修复研究 (博士学位论文). 南京: 中国科学院南京土壤研究所, 2005: 77-87
- [25] Korade DL, Fulekar MH. Remediation of anthracene in mycorrhizospheric soil using ryegrass. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 2008, 2(9): 249-256
- [26] Binet P, Portal JM, Leyval C. Dissipation of 3,6-ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(14): 2 011-2 017
- [27] 邹德勋, 骆永明, 徐凤花, 滕应, 李振高. 土壤环境中多环芳烃的微生物降解及联合生物修复. *土壤*, 2007, 39(3): 334-340
- [28] 邓欢欢, 张甲耀, 赵磊, 黄鸣洪, 柳娟. 外源降解菌对黄麻根区净化能力的生物强化作用. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(4): 426-430
- [29] 赵飞, 刘翔, 杨建刚. 降解菌对堆肥中多环芳烃降解作用的研究. *环境污染治理技术与设备*, 2005, 6(1): 47-49
- [30] Wu YC, Luo YM, Zou DX, Ni JZ, Liu WX, Teng Y, Li ZG. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil with *Monilinia* sp.: Degradation and microbial community analysis. *Biodegradation*, 2008, 19(2): 247-257
- [31] Potin O, Rafin C, Veignie E. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2004, 54(1): 45-52
- [32] 孙铁珩, 宋玉芳, 许华夏, 张海荣, 杨桂芬. 植物法生物修复 PAHs 和矿物油污染土壤的调控研究. *应用生态学报*, 1999, 10(2): 225-229

- [33] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 李华, 吴龙华. 黑麦草对苯并[a]芘污染土壤的根际修复及其酶学机理研究. 农业环境科学学报, 2007, 26(2): 526-532
- [34] Kaimi E, Mukaidani T, Miyoshi S, Tamaki M. Ryegrass enhancement of biodegradation in diesel-contaminated soil. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, 55(1/2):110-119
- [35] 邹德勋, 骆永明, 滕应, 平立凤, 刘五星, 李振高. 多环芳烃长期污染土壤的微生物强化修复初步研究. 土壤, 2006, 38(5): 652-656

### Interaction of Phytoremediation-microorganism to Remediation of Aged Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Polluted Soils

LIU Wei-wei<sup>1,2,3</sup>, YIN Rui<sup>1,2</sup>, LIN Xian-gui<sup>1,2</sup>, ZHANG Jing<sup>1,2</sup>, CHEN Xiao-min<sup>3</sup>, LI Zhan-sheng<sup>3</sup>, LI Xun-zhen<sup>1,2</sup>, XIAO Yan-ping<sup>1,2</sup>

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China;

2 Joint Open Laboratory of Soil and Environment, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences and Hong Kong Baptist University, Nanjing 210008,

China; 3 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** A pot experiment in greenhouse was carried out to investigate the interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AM) inoculation and PAHs-specific degrading bacteria (DB) inoculation on the phytoremediation of long-term PAHs contaminated soils. The results indicated that AM and DB inoculation promoted PAHs degradation in the soil with alfalfa (*Medicago sativa* L.). After 90 days, total PAHs content in soil reduced by 47.9% and 49.6% for the treatment of AM and DB respectively, but only by 21.7% for control. For the treatment of DB+AM, total PAHs content in soil reduced 60.1%, showing synergy effect of AM and DB inoculation. In addition, the average PAHs degradation gradually reduced with the increase of PAHs rings, but DB inoculation promoted the degradation of four-ring PAHs and five-ring PAHs. The removal ratio of PAHs from soil increased with the increases of the amount of culturable PAHs degrading microorganisms and the activity of dehydrogenase. Therefore arbuscular mycorrhizal fungi inoculation and PAHs-specific degrading bacteria inoculation were effective to the phytoremediation of long-term PAHs contaminated soils.

**Key words:** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Soil contamination, Alfalfa (*Medicago sativa* L.), Arbuscular mycorrhizal fungi, PAHs-specific degrading bacteria