

几种豆科、禾本科植物对多环芳烃复合污染土壤的修复^①

沈源源^{1,2}, 滕 应², 骆永明^{2*}, 孙明明², 付登强², 盛下放¹, 李振高²

(1 南京农业大学生命科学学院农业部农业环境微生物工程重点开放实验室, 南京 210095;

2 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所), 南京 210008)

摘 要: 通过盆栽试验, 研究了几种豆科植物与禾本科植物对多环芳烃(PAHs)复合污染土壤的修复作用。结果显示, 90 天后 8 种植物对土壤中 PAHs 均有不同程度降解效果, 其中紫花苜蓿和多年生黑麦草对土壤 PAHs 的去除率分别达 48.4%、46.8%, 且对 3 环 PAHs 去除较为彻底, 对 4 环及 4 环以上的 PAHs 去除效果较差。8 种供试植物对 PAHs 均有一定的吸收、富集与转运的能力, 紫花苜蓿和多年生黑麦草对土壤 PAHs 的生物富集系数分别为 0.096、0.085, 其提取修复效率为 0.017% 和 0.013%。可见, 紫花苜蓿和多年生黑麦草具有较好的根际修复潜力。

关键词: 多环芳烃; 污染土壤; 植物修复; 提取效率

中图分类号: X503.233

多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, 简称 PAHs)污染土壤的生物修复已成为当今土壤环境科学技术领域的关注热点。目前, 治理此类污染土壤的生物方法主要有微生物修复、植物修复及其两者的联合修复, 其中植物修复技术是 PAHs 污染土壤修复的主要方向之一, 它是利用植物降解、代谢、转化及其根际微生态功能的修复技术^[1]。植物修复技术具有无二次污染、安全、无毒、价廉等优点, 是颇有发展潜力的生物修复技术^[2-3]。近年来, 国内外有关 PAHs 污染土壤的植物修复方面进行了一些研究, 包括在植物吸收、植物代谢及其根际微生物生态特征等方面^[4-5], 而有关高效植物种类的筛选比较研究较为缺乏。众所周知, 研发植物修复技术的一个最重要工作就是选择适宜的植物种类。从目前来看, 在 PAHs 污染土壤修复时选用的修复植物较为单一, 以牧草的较多^[6-7], 因为牧草具有根系发达, 抗逆性强, 根际微生物丰富的特点。鉴此, 本研究拟进一步扩大植物筛选范围, 选择了 5 种禾本科植物和 3 种豆科植物, 比较研究它们对污染土壤中 PAHs 的吸收、积累及其修复效率, 为 PAHs 复合污染土壤的植物修复提供高效植物材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤: 采自长江三角洲地区某持久性有机污染物高风险区表层土壤(0~15 cm), 检出植物根系、

石砾等残留物, 自然阴干过 2 mm 筛, 以供盆栽试验用。土壤的基本理化性质: pH 为 4.5, 有机质含量为 22.7 g/kg, 全 N、全 P、全 K 含量分别为 1.3、0.8、12.4 g/kg, 水碱 N 为 163.6 mg/kg, 速效 P 为 52.0 mg/kg, 速效 K 为 60.0 mg/kg, 阳离子交换量为 16.9 cmol/kg。土壤中 15 种 PAHs 含量为 11.9 mg/kg ± 1.6 mg/kg 干土, 其各组分含量见表 1。

表 1 供试土壤中 15 种 EPA 规定的 PAHs 的含量及百分比
Table 1 Concentrations and percentages of 15 EPA PAHs in tested soil

PAHs	英文缩写	环数	含量 (μg/kg)	百分比 (%)
萘	NAP	2	—	—
苊	ACE	3	52 ± 11	0.5
芴	FLU	3	55 ± 9	0.5
菲	PHE	3	583 ± 16	5.2
蒽	ANT	3	131 ± 2	1.2
荧蒽	FLUA	4	1 528 ± 31	13.7
芘	PYR	4	2 061 ± 35	18.5
苯并[a]蒽	BaA	4	1 463 ± 28	13.1
屈	Chyr	4	1 162 ± 25	10.4
苯并[b]荧蒽	B[b]F	5	657 ± 24	5.9
苯并[k]荧蒽	B[k]F	5	592 ± 37	5.3
苯并[a]芘	B[a]P	5	1 099 ± 92	9.9
二苯并[a,h]蒽	DBA	5	152 ± 34	1.4
苯并[g,h,i]花	B[ghi]P	6	1 125 ± 81	10.1
茚并[1,2,3-cd]花	IP	6	478 ± 45	4.3
总量			11 138 ± 470	

①基金项目: 中国科学院知识创新工程项目(KZCX2-YW-404, KSCX2-YM-G071)、国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2007AA061101)和江苏省自然科学基金项目(BK2009016)资助。

* 通讯作者(ymluo@issas.ac.cn)

作者简介: 沈源源(1986—), 男, 江苏靖江人, 硕士研究生, 主要从事土壤环境生物修复方面研究。E-mail: yyshen@issas.ac.cn

供试植物: 选择禾本科植物 5 种, 包括杂交黑麦草、多年生黑麦草(雅晴 1 号)、高羊茅、狼尾草、苏丹草。其中黑麦草(*Lolium perenne* L.) 须根发达, 生长繁茂, 草质柔嫩多汁, 是一种适口性好的牧草。有研究发现黑麦草可从土壤中吸收大量的苯并[a]芘^[8]。高羊茅(*Festuca arundinace*) 在我国是一种非常普遍、适应范围广的草坪植物, 利用高羊茅修复石油污染土壤, 取得了较好效果^[9]。豆科植物选择紫花苜蓿、苕子、白三叶等 3 种。其中紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.) 在我国已有 2 000 多年的栽培历史, 广泛分布于西北、华北、东北等地区, 江淮流域也有种植, 是我国栽培面积最大的牧草和绿肥植物。白三叶(*Trifolium repens* L.) 的适应性很强, 种子出苗快, 成坪快, 侵占性强, 绿期长, 常被用作观赏草坪或绿肥。

1.2 试验设计与实施

盆栽试验于中国科学院南京土壤研究所玻璃温室内进行。试验设计 9 个处理, 即种植杂交黑麦草、多年生黑麦草、高羊茅、狼尾草、苏丹草、紫花苜蓿、苕子、白三叶和不种植(对照), 每个处理 3 个重复。每盆装供试土壤 2.25 kg, 加去离子水调节土壤水分至田间持水量的 60% 左右, 充分拌匀装盆, 平衡 2 天后备用。选取饱满的植物种子, 用 70% 酒精浸 30 s, 于 0.1% HgCl₂ 溶液中浸泡 20 min 表面消毒, 以灭菌水充分漂洗种子 5 次, 然后置于放有湿润滤纸的培养皿中 28℃ 下催芽。种子催芽后直接播种于装好供试土壤的陶瓷盆中, 10 天后间苗, 每盆留苗 10 株。试验期间土壤水分维持在田间持水量的 60% 左右。植物种植 90 天后分别采集土壤和植物样品, 土壤样品冷冻干燥后过 100 目筛, 以 PAHs 分析用。植物样品用蒸馏水充分清洗, 分地上部(包括茎叶)和根两部分, 于 50℃ 条件下烘干, 并测定其生物量干重, 粉碎后, 于真空干燥器中保存以供分析用。

1.3 土壤和植物 PAHs 含量分析^[10-11]

称取 2.0 g 冷冻干燥土样, 加无水硫酸钠(400℃ 下 8 h 烘干)混匀, 用二氯甲烷 70 ml, 索氏抽提 24 h。提取后样品旋转蒸干, 之后加入 2.0 ml 环己烷溶解, 取 0.5 ml 过硅胶柱, 用正己烷/二氯甲烷(v:v=1:1)混合溶液洗脱。弃去前 1.0 ml 洗脱液后开始收集。收集 2.0 ml 洗脱液, 用高纯氮气吹干。加 2.0 ml 乙腈溶解, 用高效液相色谱(HPLC)测定。

取 2.0 g 植物样品于 50 ml 玻璃离心管中, 加萃取液(甲醇)10 ml, 超声萃取 15 min 后离心(40℃ 以下), 上清液转移至分液漏斗, 重复 3 次, 收集上清液, 旋转蒸干。其他分析步骤同土壤分析。HPLC 为日本岛津 Class-vp 高效液相色谱分析系统, 配荧光检测器 RF-10AXL。柱温箱 OTO-10ASVP, 二元梯度泵 LC-10AT。色谱分离柱为美国 Varian 公司的 ChromSpher 5 PAH。流动相为乙腈/水(60/40)。

1.4 数据处理

土壤 PAHs 的去除率(R) = $(C_0 - C_t) / C_0 \times 100\%$, 式中 C_0 为土壤中 PAHs 初始含量, C_t 残留含量。

生物富集因子(BCFs) = 植物体内污染物的浓度 / 土壤中污染物浓度的比值。

植物转运系数(TF) = 植物地上部污染物浓度 / 地下部污染物浓度的比值。

提取效率(%) = (植物体内 PAHs 总量 / 土壤 PAHs 总量) $\times 100\%$ 。

用 SAS 做方差分析, 多重比较采用新复极差法(SSR)。

2 结果与分析

2.1 不同处理下供试植物的生物量变化

图 1 显示了培养 90 天后 PAHs 污染土壤中 8 种植物的生物量变化。从图 1 可知, 8 种植物生物量范围为 $3.05 \pm 0.13 \sim 13.09 \pm 1.78$ g/盆, 其中苏丹草、

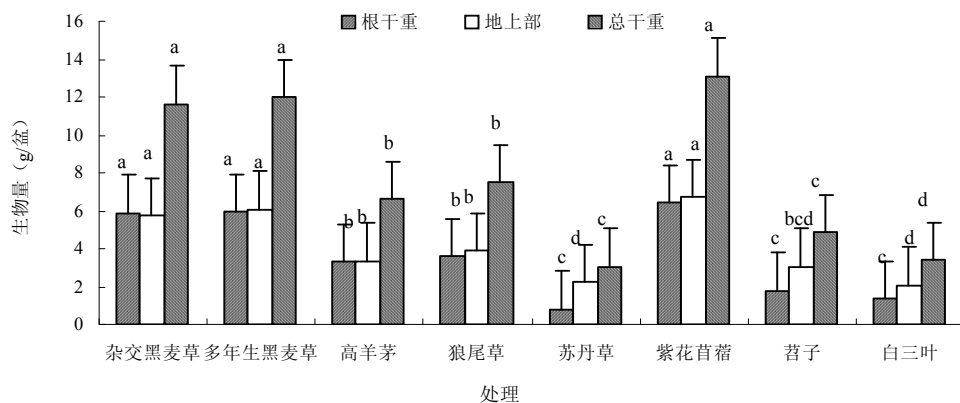


图 1 不同处理下植物生物量

Fig. 1 Biomass of different plants in soil

苕子和白三叶生物量较小，狼尾草和高羊茅居中，而紫花苜蓿和两种黑麦草生物量较大，表现出较其他植物有更高的地下部分、地上部分和总的生物量，这与其根系发达，抗逆性强有关。

2.2 植物修复后土壤中 PAHs 组分的含量变化

植物修复后土壤中 3 环、4 环、5 环、6 环及 PAHs 的总量如表 2 所示。与土壤本底值比较，所有

处理土壤中的苳、葱和茆均未检测到，在种植植物后，土壤中 PAHs 含量均有明显下降，其中种植紫花苜蓿、多年生黑麦草、狼尾草、杂交黑麦草、高羊茅后土壤 15 种 PAHs 含量分别降到了 $5\,743 \pm 398$ 、 $5\,926 \pm 1\,029$ 、 $6\,009 \pm 972$ 、 $6\,322 \pm 1\,060$ 、 $6\,237 \pm 702\ \mu\text{g/kg}$ ，与对照相比（ $8\,849 \pm 1\,766\ \mu\text{g/kg}$ ）相比，其差异达到了显著水平（ $p < 0.05$ ）。

表 2 不同处理土壤中 PAHs 的浓度
Table 2 Concentrations of PAHs in different treatment soils

PAHs	杂交黑麦草	多年生黑麦草	高羊茅	狼尾草	苏丹草	紫花苜蓿	苕子	白三叶	对照
2 环	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 环	91 ± 13	117 ± 11	105 ± 56	105 ± 69	171 ± 52	89 ± 22	158 ± 48	94 ± 22	425 ± 91
4 环	$3\,367 \pm 701$	$3\,183 \pm 706$	$3\,390 \pm 376$	$3\,155 \pm 649$	$3\,703 \pm 271$	$3\,066 \pm 265$	$4\,158 \pm 604$	$3\,496 \pm 729$	$4\,736 \pm 1\,023$
5 环	$1\,481 \pm 225$	$1\,450 \pm 229$	$1\,497 \pm 217$	$1\,440 \pm 130$	$1\,677 \pm 88$	$1\,379 \pm 141$	$1\,826 \pm 267$	$1\,680 \pm 245$	$2\,115 \pm 366$
6 环	$1\,383 \pm 140$	$1\,176 \pm 108$	$1\,245 \pm 78$	$1\,309 \pm 127$	$1\,407 \pm 151$	$1\,207 \pm 61$	$1\,473 \pm 150$	$1\,472 \pm 162$	$1\,574 \pm 331$
总量	$6\,322 \pm 1\,060$	$5\,926 \pm 1\,029$	$6\,237 \pm 702$	$6\,009 \pm 972$	$6\,948 \pm 538$	$5\,743 \pm 398$	$7\,615 \pm 989$	$6\,714 \pm 1\,123$	$8\,849 \pm 1\,766$

注：相应的 PAHs 组分的环数见表 1。

试验 90 天后，土壤中的 PAHs 各组分均有一定程度下降，各处理于对照去除率差异显著（ $p < 0.05$ ）。其中三环 PAHs 的去除率最高，其范围为 79.2% ~ 89.2%，其次是四环和五环 PAHs，分别为 33.1% ~ 50.7%、27.0% ~ 44.8%，六环 PAHs 去除率最低，为 8.1% ~ 26.6%。从表 3 可以看出，紫花苜蓿、黑麦草和高羊茅等修复 PAHs 污染土壤的效果较好。对照

图 1，发现植物对 PAHs 的修复效果与植物生物量有一定相关性，但并不显著。有研究表明，种植豆科植物具有酸化土壤的作用，可能会提高土壤中 PAHs 的生物有效性^[12]；黑麦草等发达的根系周围微生物非常丰富，加快了土壤中 PAHs 的降解^[13]。但有关不同植物间对 PAHs 修复差异的机制尚待深入研究。

表 3 不同处理土壤中 PAHs 去除率（%）
Table 3 Removal rate of PAHs in different soils

PAHs	杂交黑麦草	多年生黑麦草	高羊茅	狼尾草	苏丹草	紫花苜蓿	苕子	白三叶	对照
2 环	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 环	88.9 a	85.7 a	87.2 a	87.2 a	79.2 a	89.2 a	80.8 a	88.6 a	48.2 b
4 环	45.8 ab	48.8 a	45.5 ab	49.2 a	40.4 b	50.7 a	33.1 bc	44.5 ab	23.8 c
5 环	40.8 b	42.0 b	40.1 b	42.4 b	33.3 ab	44.8 b	27.0 a	34.2 a	15.4 c
6 环	13.7 abc	26.6 a	22.3 bc	18.3 abc	12.3 abc	24.6 ab	8.1 abc	10.8 abc	0.01 c
总量	43.2 ab	46.8 ab	44.0 ab	46.0 ab	37.6 b	48.4 a	31.6 bc	40.6 b	19.2 c

注：同行不同字母表示不同处理存在显著差异（ $p < 0.05$ ），下同。

2.3 修复后植物体内 PAHs 含量及提取效率评价

由表 4 可知，供试植物对 PAHs 均有一定的吸收与转运能力。供试植物地下部根的 PAHs 含量范围为 446.0 ~ 857.0 $\mu\text{g/kg}$ ，其中紫花苜蓿根中含量最高；供试植物地上部 PAHs 含量范围为 94.3 ~ 212.0 $\mu\text{g/kg}$ ，最高为多年生黑麦草。植物体内均有一定程度的 PAHs

存在，PAHs 在根内的含量明显高于地上部分的含量。有研究表明^[14]，植物根系的吸收、固定、代谢被认为是植物修复土壤 PAHs 污染的途径之一。关于土壤中的 PAHs 是怎样进入根系，进入的量以及在植物体内的转运与代谢途径与机制还有待深入研究。

生物富集因子（Bioconcentration factors, BCFs）是

植物体内污染物的浓度与其生长土壤中污染物浓度的比值,常用于植物修复能力评价研究,BCFs 越大,表明植物的修复能力越强。由表 4 可见,植物富集系数达到 0.049 ~ 0.096。不同供试植物生物富集系数差异很大,其中紫花苜蓿与黑麦草的富集系数显著高于其他供试植物,说明紫花苜蓿与黑麦草对 PAHs 都有较好的运移能力。但由于供试植物生物量很小,其提取效率并不是很高,因此如何促进植物生长,增加植物生物量至关重要。

植物中 PAHs 的去除分非生物因素与生物因素。生物因素包括植物代谢积累、微生物降解、植物-微生物联合效应。本试验中,不同植物代谢积累有较大差

异,紫花苜蓿与多年生黑麦草提取效率达到 0.017%、0.013%,显著高于其他供试植物 ($p<0.05$)。但是相对于土壤的去除率,植物积累的贡献率非常低,说明植物直接作用不是 PAHs 去除的主要途径。与对照(未种植物)相比,植物修复效率明显提高,主要是植物促进了土著微生物对污染物的降解作用。潘声旺等^[15]研究紫花苜蓿与油菜混种降解 PAHs 试验中也发现,植物积累代谢对 PAHs 去除贡献甚小。前人研究表明^[16],根际土壤中微生物数量远多于非根际土壤,这与根际分泌物输入根际环境有关,可刺激微生物对有机污染物的矿化作用。因此,植物对土壤 PAHs 的降解作用与根际的微生态特征等因素密切相关^[17]。

表 4 不同植物体内 PAHs 含量、富集系数 (BCF)、转运系数 (TF) 和提取效率

Table 4 Concentrations, bioconcentration factors, translocation factors of different plants

项目	杂交黑麦草	多年生黑麦草	高羊茅	狼尾草	苏丹草	紫花苜蓿	苕子	白三叶
地下部 PAHs 含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	643.7 c	733.0 b	446.0 f	630.0 c	450.7 f	857.0 a	520.0 e	576.7 d
地上部 PAHs 含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	122.3 c	212.0 a	98.7 d	94.3 d	168.0 b	210.3 a	164.6 b	98.7 d
生物富集系数 BCF	0.069 bc	0.085 b	0.049 d	0.065 bc	0.056 d	0.096 a	0.062 d	0.061 cd
转运系数 TF	0.19 de	0.29 b	0.22 cd	0.15 f	0.37 a	0.25 c	0.32 b	0.17 ef
提取效率 (%)	0.009 b	0.013 ab	0.004 c	0.005 c	0.002 c	0.017 a	0.003 c	0.002 c

3 结论

(1) 本研究选用的 8 种不同植物对 PAHs 污染土壤均有一定的修复效果,其中豆科植物紫花苜蓿和禾本科植物多年生黑麦草对土壤 PAHs 的去除率较高。种植植物对重度污染土壤中 3 环的 PAHs 去除较彻底,对 4 环及 4 环以上的 PAHs 去除效果较差。

(2) 植物吸收积累对 PAHs 污染土壤的修复贡献率小于 0.02%,而植物修复效率明显提高,主要是植物促进了土著微生物对土壤中 PAHs 的联合降解作用。特别是紫花苜蓿和两种黑麦草的生物量较高,更耐 PAHs 污染,具有较好的修复潜能。

参考文献:

- [1] 骆永明. 污染土壤修复技术研究现状与趋势. 化学进展, 2009, 21(2/3): 558-565
- [2] Gerhardt KE, Huang XD, Glick BR, Greenberg BM. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. Plant Science, 2009, 176: 20-30
- [3] Haeseler F, Blanchet D, Druelle V. Ecotoxicological assessment of soils of former manufactured gas plant sites: Bioremediation potential and pollutant mobility. Environ. Sci. Technol., 1999, 33(24): 4 380-4 384
- [4] Parrish ZD, Banks MK, Schwab AP. Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon impacted soil. Environmental Pollution, 2005, 137(2): 187-197
- [5] 彭胜巍, 周启星. 持久性有机污染土壤的植物修复及其机理研究进展. 生态学杂志, 2008, 27(3): 469-475
- [6] Cofield N, Banks MK, Schwab AP. Evaluation of hydrophobicity in PAH-contaminated soils during phytoremediation. Environmental Pollution, 2007, 145(1): 60-67
- [7] Gao YZ, Ling WT. Comparison for plant uptake of phenanthrene and pyrene from soil and water. Biology and Fertility of Soils, 2006, 42: 387-394
- [8] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 李振高. 黑麦草对菲污染土壤修复的初步研究. 土壤, 2002, 34 (4): 233-236
- [9] 杨琴, 聂麦茜, 苏君梅, 蒋欣. 高羊茅和优良菌群联合作用降解陕北黄绵土中的石油烃. 土壤, 2009, 41(3): 471-476
- [10] Simonich SL, Hites RA. Vegetation atmosphere partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons. Environ. Sci. Technol., 1994, 28: 939-943

- [11] 宋玉芳, 区自清, 孙铁珩. 土壤、植物样品中多环芳烃(PAHs) 分析方法研究. 应用生态学报, 1995, 6(1): 92-96
- [12] Liste HH, Alexander M. Accumulation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere soil. Chemosphere, 2000, 40(1): 11-14
- [13] 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
- [14] Schwab AP, Al-Assi AA, Banks MK. Adsorption of naphthalene onto plant roots. J. Environ. Qual., 1998, 27: 220-224
- [15] 潘声旺, 魏世强, 袁馨, 曹生宪. 油菜-紫花苜蓿混种对土壤中菲、芘的修复作用. 中国农业科学, 2009, 42(2): 561-568
- [16] Schnoor JL, Light LA, McCutcheon SC, Wolfe NL, Carreira LH. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. Environ. Sci. Technol., 1995, 29(7): 318-323
- [17] 杨婷, 林先贵, 胡君利, 张晶, 吕家珑, 王俊华, 李烜楨, 丛枝菌根真菌对紫花苜蓿与黑麦草修复多环芳烃污染土壤的影响. 生态与农村环境学报, 2009, 25(4): 72-76

Remediation Efficiency of Several Legumes and Grasses in PAH-contaminated Soils

SHEN Yuan-yuan^{1,2}, TENG Ying², LUO Yong-ming², SUN Ming-ming², FU Deng-qiang², SHENG Xia-fang¹, LI Zhen-gao²

(1 Key Laboratory of Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: Phytoremediation for soil PAHs with several legumes and grasses were investigated using a greenhouse study. The results indicated that eight plant species had different roles in PAHs degradation and removal in soil after 90 days. The removal rates of alfalfa and perennial ryegrass were 48.4% and 46.8%, respectively, and the biodegradation efficiency of 3-ring PAHs was high than those of 4-ring, 5-ring and 6-ring PAHs. The plant species showed different capability in PAHs uptake, accumulation and translocation from soils. Bioconcentration factors (BCFs) of alfalfa and perennial ryegrass were 0.096 and 0.085, but their phytoextraction rates were only 0.017% and 0.013%, respectively. So alfalfa and perennial ryegrass have good rhizoremediation potential in PAH-contaminated soil.

Key words: Polycyclic aromatic hydrocarbons, Contaminated soil, Phytoremediation, Phytoextraction rate