

# 植物-微生物联合对土壤不同粒径组分中 PAHs 的修复作用<sup>①</sup>

周妍<sup>1,2</sup>, 滕应<sup>2\*</sup>, 姚伦芳<sup>1,2</sup>, 任文杰<sup>2</sup>, 丁克强<sup>3</sup>, 李振高<sup>2</sup>,  
刘方<sup>1</sup>, 骆永明<sup>2</sup>, 朱焯<sup>2</sup>

(1 贵州大学资源与环境工程学院, 贵阳 550025; 2 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008; 3 南京工程学院, 南京 211167)

**摘要:** 采用温室盆栽试验, 在种植紫花苜蓿的同时, 分别施加木霉菌剂、根瘤菌菌剂以及木霉与根瘤菌复合菌剂, 并采用离心分级法将处理后土壤分为 4 个粒径团聚体, 即细黏粒(0.1~1 μm)、粗黏粒(1~5 μm)、粉粒(5~50 μm)以及细砂粒(50~250 μm), 分析了植物-微生物联合作用对不同粒径土壤中 PAHs 的去除效应。研究表明: 紫花苜蓿-根瘤菌联合作用对 PAHs 污染土壤的修复效果最优, 其降解率达 60% 以上。不同粒径组分中 PAHs 含量的分布表现为细砂粒 > 粉粒 > 粗黏粒 > 细黏粒, 且 PAHs 在不同粒径团聚体中去除率差异性较大。低环(2、3 环)PAHs 在各粒径组分中去除率较低(20% 以下), 并在不同粒径组分间呈非均衡分配状态; 4 环 PAHs 的去除主要集中在粉粒和细砂粒中, 而 5 环 PAHs 的去除主要发生在细黏粒上。可见, PAHs 在土壤不同粒径组分中分布特征及降解效应为进一步阐明 PAHs 污染土壤的生物修复机制提供了科学依据。

**关键词:** 多环芳烃; 紫花苜蓿; 木霉; 根瘤菌; 土壤团聚体; 降解效应

**中图分类号:** X53

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是有机物不完全燃烧或高温裂解的副产物, 具有致癌、致畸、致突变的作用。PAHs 具有较强的疏水性, 一旦进入土壤易与土壤颗粒或有机质结合<sup>[1]</sup>, 所以土壤是 PAHs 的主要储库<sup>[2]</sup>。PAHs 污染土壤修复基于不同的作用机制大体分为物理修复、化学修复、生物修复及联合修复技术。其中生物修复具有经济、低成本、二次污染少等优点, 被广泛应用于 PAHs 污染土壤修复。植物-微生物联合修复对污染物的去除机制主要是通过根系分泌物影响根际周围的特定微生物, 使微生物功能群落数量增加或增强共代谢作用以增强有机物的降解<sup>[3]</sup>。木霉菌(*Trichoderma* sp.) 是土壤环境中的一种丝状真菌, 可以有效抑制多种植物病原菌并能促进植物种子萌发和植株生长、提高作物产量等<sup>[4]</sup>。据研究, 木霉菌有耐受和降解多种有机污染物的能力, 对 PAHs 也有很好的降解作用<sup>[5]</sup>。根瘤菌能提供植物需要的营养元素, 促进植物生长。根瘤菌与植物联合能够降解不能被细菌单独转化的包括 PAHs 在内的有机物<sup>[6]</sup>。此外, 研究表明种植紫花苜蓿能通过根际效应有效刺激根际土壤中土著微

生物活性和数量的增加, 从而促进土壤中 PAHs 的降解<sup>[7-8]</sup>。不同类型土壤中, 土壤粒径组成不同, 不同粒径组分中有机质含量存在差异, 这种差异能导致其结合污染物的能力不同, 因此 PAHs 在土壤不同粒径组分中的分布存在空间差异, 并且不同粒径组分对 PAHs 的结合能力不同, 从而造成不同粒径组分中 PAHs 的生物有效性不同; 其次, 不同粒径的团聚体能够影响植物养分的吸附与分布, 间接影响微生物的分布, 从而影响 PAHs 的降解。可见, 探索 PAHs 在土壤不同粒径组分中的分布特征及降解规律对于污染土壤修复具有重要意义<sup>[9]</sup>。鉴于此, 本研究采用盆栽试验, 研究了紫花苜蓿与木霉、根瘤菌以及木霉与根瘤菌复合菌剂对 PAHs 污染土壤的修复效果, 并分析了土壤不同粒径组分中 PAHs 的降解效应, 以期为 PAHs 污染土壤的修复提供理论依据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试土壤: 采自长江三角洲江苏省某地 PAHs

基金项目: 国家自然科学基金项目(41230858; 41271329)资助。

\* 通讯作者(yteng@issas.ac.cn)

作者简介: 周妍(1990—), 女, 贵州贵阳人, 硕士研究生, 主要研究方向为有机污染土壤的生物修复。E-mail: yzhou@issas.ac.cn

污染场地表层土壤(0~15 cm)。检出植物根系、石砾等残留物,布袋封装,带回实验室,自然避光风干,研磨,过 2 mm 筛,于暗处 4℃ 冷藏保存。土壤的基本理化性质:pH 6.4,有机质含量 23.4 g/kg,总氮、总磷、总钾含量分别为 1.4、0.9、12.3 g/kg,阳离子交换量为 21.5 cmol/kg,16 种 EPA 定为优先控制的 PAHs 总含量为 9928.98 μg/kg,其中 2~3 环、4 环、5 环 PAHs 含量分别占 22.08%、51.32%、16.02% (表 1)。

表 1 供试土壤中 16 种 EPA 规定的 PAHs 的含量及其各自占 PAHs 总量的百分比

Table 1 Concentrations and percentages of 16 PAHs listed as priority pollutants by the US EPA in tested soil

PAHs 种类	简写	浓度(μg/kg)	百分比(%)
萘	NAP	108.72 ± 0.16	1.1
芴	ACY	163.24 ± 0.08	1.64
二氢芴	ACE	122.74 ± 0.26	1.24
芴	FLR	128.56 ± 0.87	1.29
蒽	ANT	398.4 ± 5.37	4.01
菲	PHE	260.78 ± 0.31	2.63
荧蒽	FLN	1 406.74 ± 7.78	14.17
芘	PYR	1 180.26 ± 7.05	11.89
苯并[a]蒽	BaA	721.68 ± 0.53	7.27
屈	CHR	776.52 ± 3.06	7.82
苯并[b]荧蒽	BbF	1 250.38 ± 6.45	12.59
苯并[k]荧蒽	BbF	1 166.22 ± 6.19	11.75
苯并[a]芘	BaP	813.82 ± 3.31	8.19
茚并[1,2,3-cd]芘	InP	419.06 ± 5.38	4.22
二苯并[a,h]蒽	DbahA	341.28 ± 1.96	3.44
苯并[g,h,i]芘	BghiP	711.08 ± 5.50	7.16
总量		9 928.98 ± 54.29	100

供试植物:紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.),我国栽培面积最大的牧草和绿肥植物,其种子购于江苏省农业科学院牧草研究所。

供试菌剂:苜蓿根瘤菌(*Rhizobium meliloti*)由中国农业科学院提供;里氏木霉(*Trichoderma reesei* FS10-C),由本实验室从污染土壤中筛选所得。将根瘤菌悬液(OD<sub>600</sub> = 1,接种量 10%)和木霉菌孢子悬液(10<sup>8</sup> 孢子/ml,接种量 10%)接种在由麦麸和橘皮(m/m, 1:1)制成的固体基质中,28℃ 条件下培养 72 h,制成固体菌剂。

药品与试剂:16 种 PAHs 混合标准溶液购于德国 Dr. Ehrenstorfer 公司,微生物培养所需蛋白胨、氯化钠、酵母粉均为培养基用化学药品,二氯甲烷、正己烷、丙酮、甲醇、环己烷等有机溶剂均为分析纯,GC-MS 测定溶剂正己烷为色谱纯,购于美国 Tedia

公司。

## 1.2 试验设计

1.2.1 盆栽试验 试验设置 5 个处理,分别为:接种灭活菌剂,不种植紫花苜蓿(B); 灭活木霉根瘤菌复合菌剂,种植紫花苜蓿(A); 接种木霉菌菌剂,种植紫花苜蓿(TA); 接种根瘤菌菌剂,种植紫花苜蓿(RA); 接种木霉根瘤菌复合菌剂,种植紫花苜蓿(TRA)。每个处理设置 4 个重复。每盆装供试土壤 1.5 kg,菌剂 150 g,加去离子水调节土壤含水量至田间持水量的 60%。选取催芽后的紫花苜蓿种子直接播种于装好供试土壤的花盆中,10 天后间苗,每盆留苗 10 株。盆栽试验于中国科学院南京土壤研究所控温生长室(25℃,12 h 黑暗/光照交替)内进行。培养 60 天后采集土壤样品。土壤样品一部分经冷冻干燥后过 100 目筛,以供 PAHs 含量分析,一部分过 60 目筛,以备土壤粒径分级。

1.2.2 土壤粒径分级 基于中国科学院南京土壤研究所等单位制定的土壤粒径分级标准<sup>[10]</sup>,将不同处理土壤分成细黏粒(0.1~1 μm)、粗黏粒(1~5 μm)、粉粒(5~50 μm)以及细砂粒(50~250 μm)4 个粒径组分<sup>[11]</sup>。方法如下:首先,称取 50 g 土样置于 1 L 烧杯中,加入去离子水,浸泡过夜并经超声波分散后,将悬浊液倾倒入 300 目筛,并用去离子水反复清洗至洗出液变得清亮,得到细砂粒和极少部分植物残体,即为 50~250 μm 组分;将上一步过筛后悬液转入 1 L 烧杯中加入去离子水,搅拌均匀,记录沉降时间,沉降时间根据悬液温度查表得该粒级沉降 10 cm 时间<sup>[12]</sup>,然后用虹吸管吸出,重复若干次,直至规定吸液时间,液面以下 10 cm 高度内的悬液无丁达尔效应为止,此组分为 5~50 μm 粉粒;对上一步收集到的虹吸液转移到 100 ml 离心管中,离心时间根据斯托克斯定律计算,收集底物冷冻干燥,得到 1~5 μm 粗黏粒;最后,将上一步离心管中液体转移至 100 ml 离心管中,于 4 500 r/min 离心 54 min,收集离心底物经冷冻干燥后,得到 0.1~1 μm 细黏粒<sup>[13]</sup>。本试验回收率在 94.2%~101.3%。不同粒径组分中有机碳采用 CNS 元素分析仪测定<sup>[14]</sup>。

## 1.3 土壤中 PAHs 的提取与测定

称取 2.0 g 冻干土样与 2.0 g 无水硫酸钠混合均匀置于索氏提取管中,向茄形瓶中加入二氯甲烷 70 ml,索氏提取 24 h。提取后样品于旋转蒸发器浓缩至干(36℃),然后向茄形瓶中加入 2.0 ml 环己烷溶解瓶中物质,取 0.5 ml 溶液过硅胶柱,用正己烷和二氯甲烷混合液(v/v, 1:1)洗脱。弃去起初的 1.0 ml 洗脱液,收集 2 ml 洗脱液于刻度试管中,用高纯氮气吹干,

加 2.0 ml 正己烷溶解,用气相色谱-质谱联用(GC-MS)测定<sup>[15-16]</sup>。

色谱条件：采用自动进样器的 Agilent 7890GC-5975MSD 型气相色谱仪分析。色谱柱：DB-5 石英毛细柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)，配备 EI 源，携带 Chemstation 工作站；进样口温度：250℃；升温程序：初始温度 50℃，保持 1 min，以 25℃/min 升至 200℃，以 8℃/min 升至 280℃，以 1℃/min 升至 283℃，以 2℃/min 升至 290℃；载气(He)流速 1 ml/min，进样量 1 μl；不分流进样。质谱条件：电子轰击(EI)离子源；电子能量 70 eV；传输线温度 260℃；离子源温度 230℃；质量扫描范围(*m/z*)60 ~ 640 amu。

### 1.4 数据处理

土壤中 PAHs 的去除率(%)=( $C_a - C_b$ )/ $C_a \times 100\%$ ，式中： $C_a$  为原始污染土壤中 PAHs 的初始含量， $C_b$  为处理后土壤中 PAHs 的含量。

土壤在进行不同粒径分级后 PAHs 的回收率(%)=( $C_1 \times C_1\% + C_2 \times C_2\% + C_3 \times C_3\% + C_4 \times C_4\%$ )/ $C_0 \times 100\%$ ，

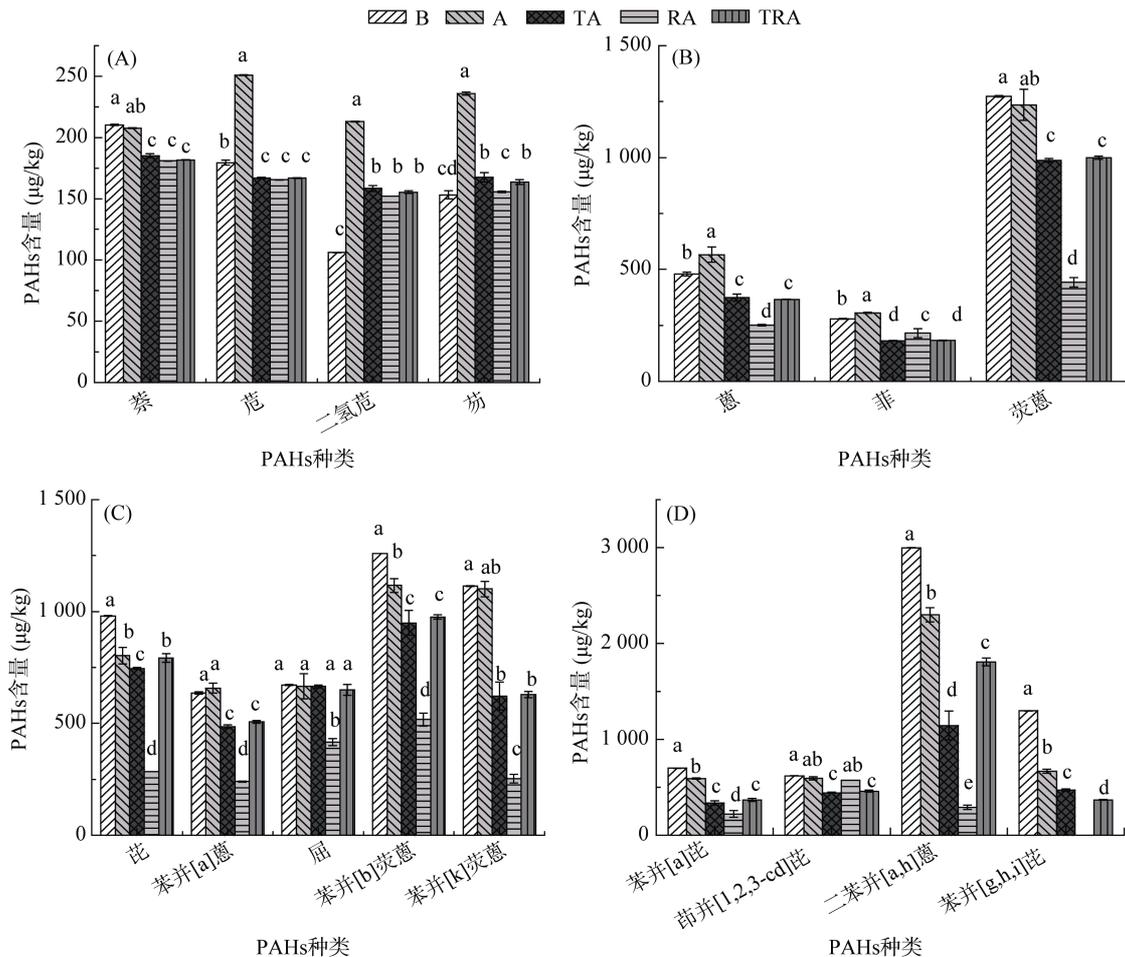
式中： $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$  分别代表 4 个粒径中 PAHs 的测定含量， $C_0$  表示未进行土壤粒径分级 PAHs 的测定含量； $C_1\%$ 、 $C_2\%$ 、 $C_3\%$ 、 $C_4\%$  分别代表不同粒径组分所占土壤组分的百分比，分别为 4.3%、41.32%、24.46% 和 24.72%。经计算，土壤粒径分级后，PAHs 的回收率在 96.38% ± 0.7%，说明此粒径分级方法对 PAHs 的损失较少，可忽略不计。

采用 SPSS 19.0 进行方差分析和显著性差异比较分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同处理对土壤中 PAHs 总含量与降解效应的影响

从图 1 中可以看出，4 种处理对土壤中 PAHs 均具有一定的修复作用，种植紫花苜蓿的土壤中 PAHs 的降解率仅为 18%，接种木霉和根瘤菌对紫花苜蓿降解土壤中 PAHs 具有促进作用，接种根瘤菌的促进效果尤为明显，紫花苜蓿-根瘤菌联合修复后



(A : 2 环 PAHs ; B : 3 环 PAHs ; C : 4 环 PAHs ; D : 5 环 PAHs ; 图中不同字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ ))

图 1 不同处理修复后土壤中 PAHs 含量

Fig. 1 Concentrations of 16 PAHs after four treatments

土壤中 PAHs 的降解率达 60%。而当同时接种木霉菌和根瘤菌时,土壤中 PAHs 的降解率较单独接种根瘤菌明显降低,可能是由于木霉与根瘤菌在修复过程中发生了拮抗作用,导致促进 PAHs 降解的效果不明显。4 种处理对土壤中 PAHs 的降解主要集中在 2、3、4 环 PAHs,而接种根瘤菌明显提高了各环 PAHs 的降解率,尤其是 5 环 PAHs。

为了进一步研究 4 种处理对土壤中各环 PAHs 的修复效果,对修复前后土壤中各环 PAHs 的含量变化分别进行作图,结果见图 2。由图 2 可知,种植紫花苜蓿对 3 环 PAHs 的降解效果不大,对 4 环和 5 环 PAHs 具有一定的降解效果,却提高了 2 环 PAHs(除萘外)在土壤中的含量,这可能是由于紫花苜蓿的根系分泌物能促进低环 PAHs 从土壤颗粒中解吸。许端平等<sup>[18]</sup>研究表明萘、芘、二氢芘、菲等低环 PAHs 的分子骨架中的苯环会与土壤颗粒中有机质形成  $\pi$  电子重迭而形成共轭,间或是有机质骨架中的烃类与 PAHs 之间形成范德华力而使得污染物结合更为牢固,不易被微生物或其他途径降解利用,这可能是导致本研究中萘、芘等无明显降解的原因。而芘的分子结构与 4 环接近,这可能是芘有别于其他 PAHs 降解规律的原因。接种木霉菌和根瘤菌后,PAHs 的降解率明显提高,尤其对 3、4、5 环 PAHs 降解的促进效果尤为明显,接种根瘤菌对 PAHs 降解的促进作用要强于接种木霉菌的处理。

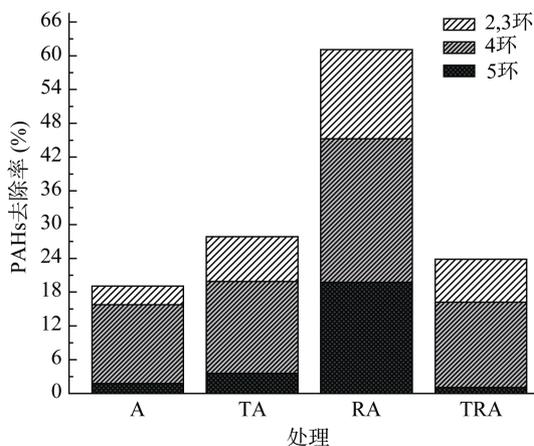


图 2 4 个处理下土壤中不同环数 PAHs 的降解率  
Fig. 2 Degradation rates of PAHs with different rings after four treatments

## 2.2 不同处理对不同粒径组分中 PAHs 降解效应的影响

由图 3 可知,在 4 种处理条件下,PAHs 在不同粒径中的总去除率存在差异,而在 0.1~1  $\mu\text{m}$  粒径组分中 PAHs 的去除率差异不明显,说明此粒径组分中

PAHs 的去除不是产生差异的主要原因;在 1~5  $\mu\text{m}$  粒径组分中,TRA 处理对 PAHs 的去除作用高于其他处理,TA 处理此粒径中 PAHs 的含量未发生变化;在 5~50  $\mu\text{m}$  粒径组分中,经 4 种处理后土壤总 PAHs 的去除率较低(均低于 25%),其中 A 处理对此粒径中 PAHs 无去除作用;在 50~250  $\mu\text{m}$  粒径中,PAHs 的去除率较高,其中 TA 与 TRA 处理此粒径中 PAHs 的去除率达 70%。由图 3 还可看出,RA 与 TRA 处理对 PAHs 的去除效果最好。

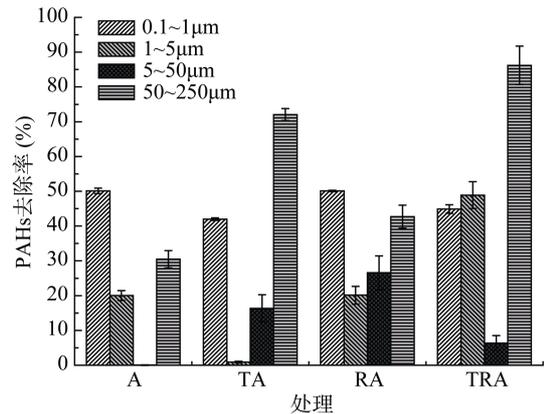


图 3 4 种处理下土壤不同粒径组分中 PAHs 的降解率  
Fig. 3 Degradation rates of PAHs in different particle-size fractions after four treatments

由图 4A、4B 可知,经 4 种处理作用后,2、3 环 PAHs 在不同粒径土壤中的含量均有不同程度的升高,尤其在 0.1~1  $\mu\text{m}$  与 1~5  $\mu\text{m}$  的粒径组分中,这可能是由于在微生物降解 PAHs 的过程中,高环 PAHs 经开环、裂解作用生成了低环 PAHs。还有一种原因可能是由于不同环数 PAHs 之间发生了转化。Sanchez-Trujillo 等<sup>[19]</sup>对 PAHs 污染土壤研究发现,在总 PAHs 浓度不发生变化时,不同环数 PAHs 占总量的比例会发生较大的变化,PAHs 发生转移后,3 环 PAHs 所占比例甚至高于 50%。从图 4A、4B 还可看出,经 4 种不同处理后,2 环、3 环 PAHs 降解率基本在 20% 以下,这与总 PAHs 降解规律一致。

由图 4C 可知,4 种处理对土壤中 4 环 PAHs 去除率的差异不大,仅 TRA 处理对 50~250  $\mu\text{m}$  粒径组分内四环 PAHs 的去除率超过 20%,说明向土壤中添加优势降解菌并不是 4 环 PAHs 去除的主要原因,可能是在培养过程中土著微生物活化后对 PAHs 产生去除作用;由图 4C 还可知,A、RA、TA 处理对 4 环 PAHs 的去除主要集中在 5~50  $\mu\text{m}$  及 50~250  $\mu\text{m}$  粒径组分中,TRA 处理则主要集中在 1~5  $\mu\text{m}$  及 50~250  $\mu\text{m}$  粒径组分中;PAHs 在 50~250  $\mu\text{m}$  粒径组分中的去除率较其他粒径组分高,其原因可能是

50 ~ 250 μm 粒径组中 4 环 PAHs 含量较高，其次微生物在 50 ~ 250 μm 粒径组中的生物量更高，大粒径组中的 PAHs 也更易被微生物所利用。罗红燕<sup>[20]</sup>对不同团聚体中营养元素分布及真菌、细菌分布规律的研究发现，全磷、全钾等微生物必需的营养元素在 50 ~ 250 μm 粒径组中含量较多，且与团聚体中真菌、细菌的含量呈正相关。

由图 4D 可知，4 种处理对土壤中 5 环 PAHs 的去除率较高，且明显高于其他环数 PAHs 的去除。此外，4 种处理中 PAHs 在不同粒径组分中的降解规律大体相同，在 0.1 ~ 1 μm 组分中去除率最高，1 ~ 5 μm 组分次之，50 ~ 250 μm 组分中去除率最小。说明 5 环 PAHs 的去除主要发生小粒径团聚体上。

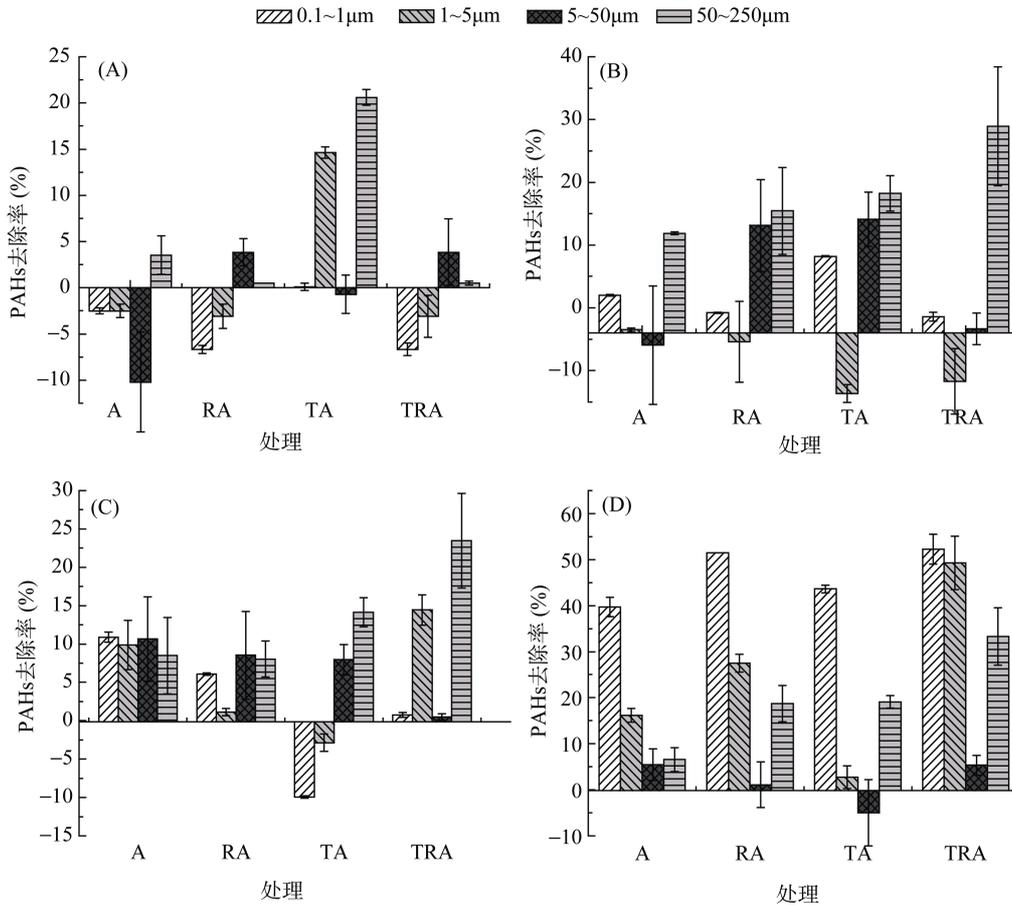


图 4 不同处理下 2 环(A)、3 环(B)、4 环(C)、5 环(D)PAHs 在 4 个粒径范围对 PAHs 的去除率  
Fig. 4 Degradation rates of 2-ring (A), 3-ring (B), 4-ring (C), 5-ring (D) PAHs in four particle size fractions after four treatments

如图 4 所示，经 TA 处理后，不同环数 PAHs 在小粒径团聚体中的含量均有一定程度的升高，可能的原因是在培养过程中一部分 PAHs 在不同粒径间发生了转移，其次，这也与木霉的真菌结构有关，由于木霉的菌体较大，不易与小粒径团聚体中 PAHs 相接触，因而也不利于 PAHs 的去除。而经 RA 处理后 PAHs 去除率高的原因可能是根瘤菌在小粒径团聚体中分布较多。Najat 等<sup>[21]</sup>研究发现，细菌在黏粒以及粉粒上的分布大于其他粒径或者未进行粒径分级的部分，因此附着在黏粒与粉粒上的 PAHs 更易被微生物利用而降解。

选取两种具有代表性的 PAHs，即苯并[k]荧蒹和芘进行分析，发现二者在不同处理及不同粒径中的去

除率均有较大的差异。由图 5A 可知，苯并[k]荧蒹在小粒径团聚体中浓度减少较多，但在大粒径团聚体中浓度却增加，这很可能是苯并[k]荧蒹在培养过程从小颗粒粒径向大颗粒粒径发生了转移，这也可能是 4 环 PAHs 在经 TA 与 RA 处理后去除率低的主要原因。由图 5B 可看出，芘的去除主要发生在 5 ~ 50 μm 粒径组分中，且在大粒径团聚体中去除率比小粒径团聚体高，这与苯并[k]荧蒹的降解有很大的不同。此外，由图 5B 可知，芘在经 A、TA 处理后，同样存在粒径间相互转移的情况，这可能也是高环 PAHs 在微生物降解过程中不易被降解的原因。图 5 还显示，两种不同 PAHs 的去除存在一定的差异，且与总 PAHs 的去除存在差异。

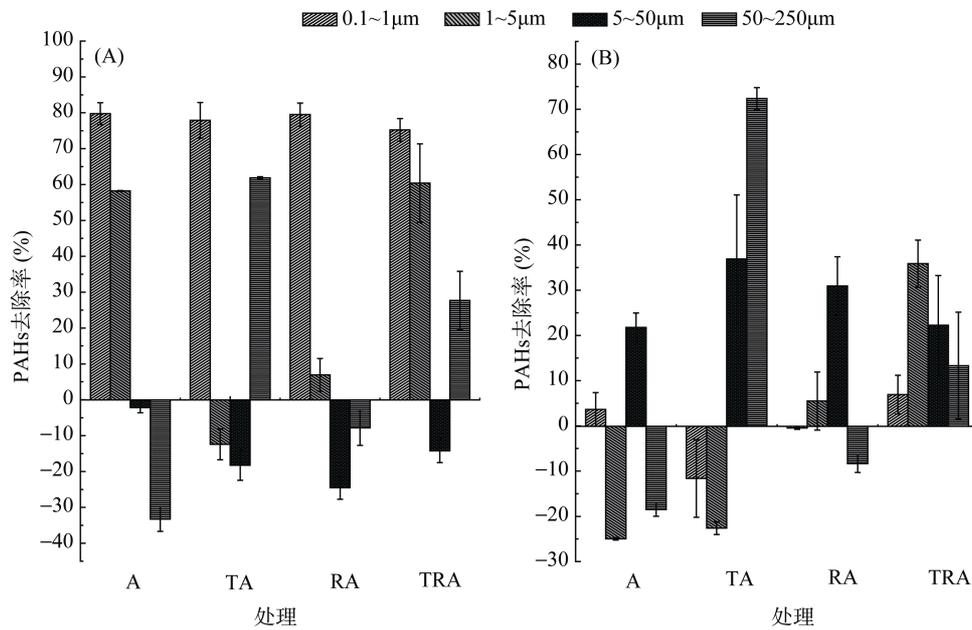


图 5 不同处理土壤中苯并[k]荧蒽(A)与芘(B)在不同粒径中的降解率  
Fig. 5 Degradation rates of BkF and PYR in four particle size fractions after four treatments

### 2.3 土壤不同粒径组中有机质与 PAHs 含量的相关性分析

土壤中有机质的含量通常被认为是 PAHs 等疏水性有机物空间分布差异的主要原因<sup>[22]</sup>。高环 PAHs 主要存在于表层土壤,并与土壤有机质胶体结合而发生迁移<sup>[23]</sup>。从图 6 中可以看出,4 种处理不同粒径组分有机质含量表现为:细砂粒(50 ~ 250 µm) > 粗黏粒(1 ~ 5 µm) > 细黏粒(0.1 ~ 1 µm) > 粉粒(5 ~ 50 µm), PAHs 在细砂中的浓度也明显高于在其他粒径中,即有机质含量越高,在这范围粒径中的 PAHs 含量也越高,这与 Ni 等<sup>[24]</sup>的研究一致。而赵芳妮等<sup>[25]</sup>研究发

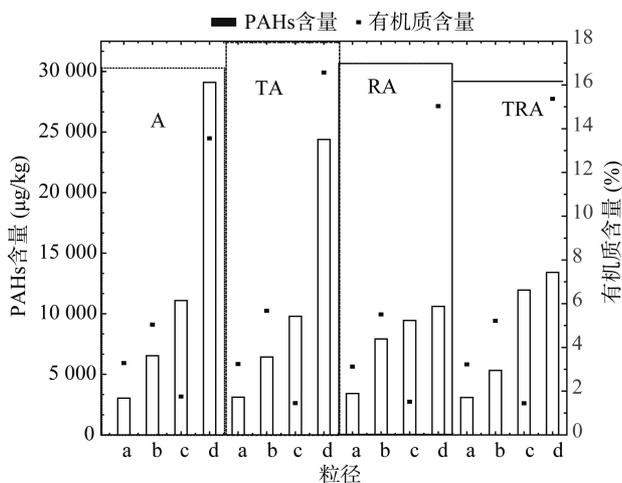
现,PAHs 在粉砂中含量高于细砂和黏粒,与本研究所得到的细砂粒中 PAHs 含量最高有所不同,可能是由于本研究供试土壤为水稻土,种植水稻过程,会产生大量植物残体,与赵芳妮等<sup>[25]</sup>研究的焦化厂污染场地表层土壤有机质含量存在差异有关。

### 3 结论

紫花苜蓿-根瘤菌联合作用对 PAHs 污染土壤的修复效果最优,降解率达 60% 以上。不同粒径组分中 PAHs 含量的分布顺序为细砂粒 > 粉粒 > 粗黏粒 > 细黏粒,且 PAHs 在不同粒径团聚体中去除差异性较大。低环(2、3 环)PAHs 在各粒径组分中去除率较低(20% 以下),4 环 PAHs 的去除主要存在于粉粒及细砂粒中,5 环 PAHs 的去除则主要存在于细黏粒与粗黏粒中。低环 PAHs 在培养过程中可以在不同粒径组分间发生非均衡分配,2 环 PAHs 向 3 环 PAHs 转化,在总浓度不变的情况下,不同处理后 3 环 PAHs 所占比例明显升高。

#### 参考文献:

- [1] Thorsen WA, Cope WG, Shea D. Bioavailability of PAHs: effects of soot carbon and PAH source[J]. Environmental Science and Technology, 2004, 38: 2 029-2 037
- [2] Lake JL, Norwood C, Dimock C, Robert B. Origins of polycyclic aromatic hydrocarbons in Estuarine sediments[J]. Geochim Cosmochim Acta, 1997, 43: 1 847-1 854
- [3] 尹春芹, 蒋新, 杨兴伦, 卞永荣, 王芳. 施肥对花红苋菜吸收和积累土壤中 PAHs 的影响[J]. 中国环境科学, 2008, 28(8): 742-747



(a: 0.1 ~ 1 µm; b: 1 ~ 5 µm; c: 5 ~ 50 µm; d: 50 ~ 250 µm)  
图 6 土壤不同粒径中 PAHs 与有机质分布规律

Fig. 6 Distribution of PAHs and organic content in soil four particle size fraction

- [4] Harman GE. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 2006, 96(2): 190–194
- [5] Tripathi P, Singh P, Mishra A, Puneet S, Dwivedi S, Bais T, Tripathi RD. *Trichoderma*: A potential bioremediator for environmental clean up[J]. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 2013: 1–10
- [6] Ahmad D, Mehmannaavaz R, Damaj M. Isolation and characterization of symbiotic N<sub>2</sub>-fixing *Rhizobium meliloti* from soils contaminated with aromatic and chloroaromatic hydrocarbons: PAHs and PCBs[J]. *International Biodegradation and Biodegradation*, 1997, 39: 33–43
- [7] Korade DL, Fulekar MH. Remediation of anthracene in mycorrhizospheric soil using ryegrass[J]. *Environmental Science Technology*, 2008, 2(9): 249–256
- [8] 刘魏魏, 尹睿, 林先贵, 张晶, 陈效民, 李恒桢, 杨婷. 生物表面活性剂-微生物强化紫花苜蓿修复多环芳烃污染土壤[J]. *环境科学*, 2010, 31(4): 1 080–1 084
- [9] Zheng Y, Luo XL, Zhang W, Wu B, Han F, Lin ZR, Wang XJ. Enrichment behavior and transport mechanism of soil-bound PAHs during rainfall-runoff events[J]. *Environmental Pollution*, 2012, 171: 85–92
- [10] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1980: 466–36
- [11] Tang ZY, Wu LH, Luo YM, Christie P. Size fractionation and characterization of nanocolloidal particles in soils[J]. *Environmental geochemistry and health*, 2009, 31: 1–10
- [12] Joner E J, Leyval C. Rhizosphere gradients of PAH dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37: 2 371–2 375
- [13] 王楠. 低分子量有机酸对土壤不同粒径组分吸附 PAHs 的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2012
- [14] 李志鹏, 潘根兴, 李恋卿, 张旭辉, 林凡. 水稻土和湿地土壤有机碳测定的 CNS 元素分析法与湿消化容量法之比较[J]. *土壤*, 2008, 40(4): 580–585
- [15] Teng Y, Shen YY, Luo YM, Sun XH, Sun MM, Fu DQ, Li ZG, Christie P. Influence of *Rhizobium meliloti* on phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons by alfalfa in an aged contaminated soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 186: 1 271–1 276
- [16] 孙明明, 滕应, 骆永明, 李振高, 贾仲君, 张满云. 甲基β-环糊精对污染场地土壤中多环芳烃的异位增效洗脱修复研究[J]. *环境科学*, 2013, 34(6): 2 428–2 434
- [17] 姚伦芳, 滕应, 吴永贵, 李振高, 骆永明. 多环芳烃污染土壤的微生物-紫花苜蓿联合修复效应[J]. *生态环境报*, 2014, 23(5): 890–896
- [18] 许瑞平, 陈洪, 曹云者, 谷庆宝, 王宛华, 李发生. 多环芳烃菲在不同土壤及其组分中的吸附特征研究[J]. *农业环境科学学报*, 2005, 24(4): 625–629
- [19] Sanchez-Trujillo MA, Morillo E, Villaverde J, Lacorte S. Comparative effects of several cyclodextrins on the extraction of PAHs from an aged contaminated soil[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 178: 52–58
- [20] 罗红燕. 土壤团聚体中微生物群落的空间分布及其对耕作的响应[D]. 重庆: 西南大学, 2009
- [21] Najat A, Portal J M, Berthelin J. Distribution and location of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and PAH-degrading bacteria within polluted soil aggregates[J]. *Biodegradation*, 2001, 12: 49–57
- [22] Wang XC, Zhang YX, Chen RF. Distribution and partitioning of PAHs in different size fractions in sediment from Boston Harbor, United States[J]. *Mar. Pollut. Bull.*, 2001, 42: 1139–1149
- [23] He FP, Zhang ZH, Wan YY, Lu S, Wang L, Bu QW. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of Beijing and Tianjin region: Vertical distribution, correlation with TOC and transport mechanism[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21(5): 675–685
- [24] Ni JZ, Luo YM, Wei R, Li XH. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in particle-size separates and density fractions of typical agricultural soils in the Yangtze River Delta, east China[J]. *European Journal of Soil Science*, 2008, 59: 1 020–1 026
- [25] 赵芳妮, 田文杰, 汪群慧, 李发生. 焦化厂污染场地表层土壤有机-矿质复合体中多环芳烃的分布[J]. *环境化学*, 2012, 31(8): 1 195–1 200

## Combined Effect of Plant and Microorganism on Degradation of PAHs in Different Particle Size Fractions

ZHOU Yan<sup>1,2</sup>, TENG Ying<sup>2\*</sup>, YAO Lun-fang<sup>1,2</sup>, REN Wen-jie<sup>2</sup>, DING Ke-qiang<sup>3</sup>, LI Zhen-gao<sup>2</sup>, LIU Fang<sup>1</sup>, LUO Yong-ming<sup>2</sup>, ZHU Ye<sup>2</sup>

(1 College of Resource and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3 Nanjing Institute of Technology, Nanjing 211167, China)

**Abstract:** A pot experiment was conducted to explore the combined remediation of microorganisms (*Trichoderma reesei* and *Rhizobium meliloti*) and alfalfa stimulated the degradation of PAHs by rhizosphere microflora in different particle-size fractions of soil aggregates. Soil aggregates were partitioned into 4 particle-size fractions (clay: 0.1 – 1  $\mu\text{m}$ , fine silt: 1 – 5  $\mu\text{m}$ , silt: 5 – 50  $\mu\text{m}$  and fine sand: 50 – 250  $\mu\text{m}$ ) by using the method of centrifugation in five treatments. The results showed that the degradation rate of PAHs in soil treated with *Rhizobium meliloti* with alfalfa was 60%. The distribution of 16 PAHs concentrations in different soil particle size composition was in the order of fine sand > silt > fine sand > clay, besides, low-molecular (2, 3-ring) PAHs was not degraded and but transferred in different size of particles (degradation rate less than 20%). The degradation of 4-ring PAHs occurred mainly on silt and fine sand soil particles and 5-ring PAHs degradation on the clay. Hence, the distribution and degradation of PAHs in different size of particles has a great significance on remediation of PAHs polluted soil.

**Key words:** Polycyclic aromatic hydrocarbons; Alfalfa; *Trichoderma reesei*; *Rhizobium meliloti*; Soil particles; Degradation