

油菜-紫花苜蓿混种对土壤中菲、芘的修复作用

潘声旺, 魏世强, 袁馨, 曹生宪

(西南大学资源环境学院/重庆市农业资源与环境研究重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 【目的】探讨混种模式下植物对土壤中多环芳烃(PAHs)污染的联合修复、积累效应。【方法】采用盆栽试验法, 对比研究油菜、紫花苜蓿在不同栽培模式下对土壤中芘、菲的去除效果与修复机制。【结果】在试验浓度范围内, 混种模式下芘、菲的修复效果明显超过单种模式。油菜、紫花苜蓿联合种植 70 d 后, 土壤中菲、芘平均去除率为 75.06%、68.22%, 分别比二者单独种植时高出 43.26%、40.38%和 11.03%、16.29%, 强化效果明显。植物本身能够吸收与累积在一定量的菲和芘, 累积量与土壤中菲、芘的添加浓度正相关。相同污染水平下, 茎叶部积累量低于根部、菲小于芘、混种模式低于单种模式。在植物-微生物系统中, 微生物降解、植物-微生物联合效应是菲、芘去除的主要途径, 但植物-微生物联合效应是混种模式下强化修复 PAHs 污染的主要原因。【结论】混种模式能强化 PAHs 污染土壤的修复效果、减少植物积累、缓解污染风险。

关键词: 植物修复; 多环芳烃; 混种; 植物-微生物联合效应; 土壤

Mechanisms of the Removal and Remediation of Phenanthrene and Pyrene in Soil with Mixed Cropping of Alfalfa and Rape

PAN Sheng-wang, WEI Shi-qiang, YUAN Xin, CAO Sheng-xian

(College of Resources and Environment, Southwest University/Key Laboratory of Agricultural Resources and Environment in Chongqing, Chongqing 400715)

Abstract: 【Objective】 To evaluate the potential of multispecies rhizoremediation in decontaminating polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soil and its impacts on plant accumulations of PAHs. 【Method】 Pot experiments were conducted to investigate the mechanisms of the removal and remediation efficiencies of PAHs under different planting models using two plant species, alfalfa (*Medicago sativa* L.) and rape (*Brassica campestris* L.) in a greenhouse. 【Result】 Results showed that multispecies rhizoremediation rather than monoculture have the evident potential to enhance pollutants removal in soils with initial phenanthrene concentrations of 20.05-322.06 mg·kg⁻¹ and pyrene of 20.24-321.42 mg·kg⁻¹. At the end of the 70 d experiment, the extractable PAHs in soils with mixed cropping of alfalfa and rape were lower than that in monoculture. About 65.17%-83.52% of phenanthrene and 60.09%-75.34% of pyrene were removed from the soils in mixed cropping, respectively. As compared to monoculture with rape, mixed cropping removed in 43.26% of phenanthrene and 40.38% of pyrene from soils in average and relative to monoculture with alfalfa, 11.03% of phenanthrene and 16.29% of pyrene was removed. Alfalfa or rape did take up PAHs from the soils obviously; the concentrations of PAHs in root or shoot monotonically increased while ones in the soils were higher, and under the same treatment conditions, the concentrations of PAHs in root or shoot were lower in mixed cropping than that in monoculture, and in the shoot lower than in the root. Despite the presence of vegetation evidently enhanced the remediation of PAHs in soil environment, contributions of abiotic loss, plant accumulation and degradation was much lower than ones of microbial degradation and plant-microbial interactions in the process of phytoremediation. Thus plant-microbial interactions are the main mechanisms for the remediation enhancement of soil PAHs pollution under mixed cropping models. 【Conclusion】 Results from this study suggested a feasibility of the establishment of multispecies phytoremediation to improve the efficiency of bioaugmentation in decontaminating

收稿日期: 2008-04-23; 接受日期: 2008-07-04

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD87B10-05)、国家 863 项目(2006AA10Z427)和重庆市科技攻关项目(CSTC-2006AC1018)

作者简介: 潘声旺(1973—), 男, 河南商城人, 博士研究生, 研究方向为污染生态学。Tel: 13883536835; E-mail: panwang@swu.edu.cn。通信作者魏世强(1963—), 男, 四川乐山人, 研究员, 研究方向为环境化学、农业环境保护。Tel: 13983208439; E-mail: sqwei@swu.edu.cn

PAHs contaminated soils, decreasing crop accumulations to PAHs and reducing risks associated with PAHs.

Key words: phytoremediation; polycyclic aromatic hydrocarbons; mixed cropping models; plant-microbial interactions; soil

0 引言

【研究意义】多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是环境中普遍存在的一类持久性有机污染物, 主要来源于有机物不完全燃烧或高温裂解, 对人体和其它生物具有较强的“三致”效应^[1]。PAHs 性质稳定、水溶性差, 环境含量逐年上升^[2]。在中国, 农田土壤 PAHs 背景值在 10~20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 部分区域已达到 $10^2\sim 10^4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[3], 严重威胁着土壤的生态安全、农产品质量和人类健康。修复土壤 PAHs 污染已成为环境领域的热点问题^[4]。【前人研究进展】在 PAHs 污染修复方法中, 植物修复技术操作简便, 投资少、持效长、环境友好, 发展潜力巨大^[5-6]。多数植物对 PAHs 吸收能力差、修复效率低, 但高脂肪含量植物对 PAHs 却表现出较好的吸收、富集效应^[7], 积累量的多少与自身脂肪含量呈显著正相关^[8]。【本研究切入点】以往的研究多在单种模式下进行, 混种模式对植物的修复、积累效应有何影响? 能否通过混种模式减少 PAHs 在高油脂含量作物体内的积累、缓解污染风险? 研究报道较少。【拟解决的关键问题】以菲、芘为 PAHs 代表物, 比较紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.)、油菜 (*Brassica campestris* L.) 在单种、混种栽培模式下对菲、芘污染土壤的修复效果及其修复机制, 为 PAHs 污染的生态修复、农产品质量的安全调控提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验时间与地点

本研究盆栽试验于 2007 年 9—11 月在西南大学智能温室内进行, 试验周期 70 d。

1.2 试验材料

1.2.1 土壤 中性紫色土, 采自西南大学试验农场, 理化性质: 有机质 22.3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, CEC 27.43 $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH 7.19, 速效氮、磷、钾分别为 114.6、24.7、94.8 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2.2 植物 以 1 周龄油菜、紫花苜蓿幼苗为试验材料。种子经双氧水处理后, 无菌条件下催芽、培养。1 周龄后, 选择大小相近的幼苗备用。

1.2.3 化学品 菲、芘购自德国 Fluka 公司, 纯度 > 97%; 二氯甲烷、丙酮、正己烷、氢氧化钾、无水硫

酸钠、层析用硅胶为分析纯; 甲醇为色谱醇。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 土样采集后, 风干、过 3 mm 筛。将定量的菲、芘 (由污染水平、用土量估算) 经丙酮单独溶解后, 均匀洒在土样表层, 待丙酮挥发后, 多次搅拌、混匀, 制得 6 个污染水平 (表 1)。试验设计 4 个处理、重复 5 次。①处理 1 (CK₁): 土样中加入 0.1% NaN₃ (抑制微生物活动)^[9], 不种植物; ②处理 2 (CK₂): 不种植物, 不加 NaN₃; ③处理 3 (TR₃): 种植物 (分 3 个组合: 油菜组、紫花苜蓿组、油菜-紫花苜蓿混种组, 下同), 加 0.1%NaN₃; ④处理 4 (TR₄): 种植物, 不加 NaN₃。各取土样 2 kg 于盆钵中, 50%田间持水量下室内平衡 4 d 后待用。油菜组每盆 3 株, 苜蓿组每盆 10 株, 混合组保留株数与单种时相同。试验期间, 田间持水量维持在 50% (称重补水法), 每 2 周施无机肥 (N : P₂O₅ : K₂O=1 : 0.35 : 0.8) 1 次^[10], 每盆 2 g。

表 1 土样中菲、芘的初始浓度

Table 1 Initial concentrations of PAHs in treated soils ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

PAHs	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
菲 Phenanthrene	ND	20.05	40.88	81.05	161.44	322.06
芘 Pyrene	ND	20.24	39.58	79.86	160.64	321.42

T₀: 对照土样、未加 NaN₃; ND: 没有检出

T₀: Pollution-free control soils without NaN₃; ND: Not detected; n=3

1.3.2 样品采集与制备 植物根、茎叶采集后, 用蒸馏水充分淋洗, 用滤纸蘸干表面水分, 冷冻干燥后, 研磨过 1.0 mm 筛, 于 -20℃ 下保存待分析; 四分法采集土样, 风干、过 20 目筛, -20℃ 下保存。

1.3.3 PAHs 提取与净化 参照文献[11], 略作改进。①土壤样品: 取 2.0 g 土样于离心管内, 加入 2 g 无水硫酸钠, 混匀; 加入 10 ml 二氯甲烷, 40℃ 下超声萃取 1 h; 4 000 r/min 下离心。取 3 ml 上清液过 Fisher Pasteur 玻璃管硅胶柱, 1 : 1 二氯甲烷和正己烷洗脱, 40℃ 下浓缩至干, 用甲醇定容到 2 ml, 过 0.22 μm 孔径滤膜后 HPLC 分析。②植物样品: 取 1 g 样品于 25 ml 玻璃离心管中, 加萃取液 (丙酮 : 正己烷=1 : 1) 10 ml, 超声萃取 30 min 后离心 (40℃ 以下), 上清液转移至分液漏斗, 重复 3 次。皂化 (去除叶绿素等

干扰成分)、脱水;经旋转蒸发器蒸干后,用甲醇定容,样品过硅胶柱净化、浓缩定容后 HPLC 分析。

1.4 PAHs 测定方法与质量控制

HPLC (Waters600) 测定, DAD 检测器, 检测限菲为 $42.6 \text{ pg}\cdot\text{L}^{-1}$, 芘为 $54.2 \text{ pg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。流动相为甲醇加水 (83 : 17), 检测波长菲 246 nm, 芘 235 nm。土样中菲、芘回收率分别为 95.87% ($n=7$, $\text{RSD}<5.54\%$)、94.36% ($n=7$, $\text{RSD}<6.58\%$); 植物样中分别为 94.12% ($n=7$, $\text{RSD}<4.66\%$)、92.88% ($n=7$, $\text{RSD}<5.47\%$)。

1.5 数据处理

经 Excel 基础处理后, 在 SPSS12.0 中用新复极差法 (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) 检验。PAHs 的去除率 (R) 为:

$$R = (C_0 - C_t) \times 100\% / C_0$$

式中, C_0 为土壤中 PAHs 初始浓度, C_t 为取样时土壤中残留浓度。

2 结果与分析

2.1 不同栽培模式下的修复作用

2.1.1 PAHs 污染对植物生长的影响 生长 70 d 后, 植物在菲污染土壤中生长状况如图 1 所示。植株高度、

茎叶重、生物量及根冠比与对照组 (T_0) 间差异不显著 ($B. campestris$: $n=15$, $P>0.05$; $M. sativa$: $n=50$, $P>0.05$), 但根冠比都小于 T_0 组。与 T_0 组及低污染状态相比, 高污染 (T_5) 环境中, 生长呈现受抑制趋势, 但各指标间差异不显著 ($B. campestris$: $n=15$, $P>0.05$; $M. sativa$: $n=50$, $P>0.05$)。添加芘的土壤中, 长势变化与菲污染时大致相同。相同污染水平下, 栽培模式对植物生长影响甚微 ($B. campestris$: $n=30$, $P>0.05$; $M. sativa$: $n=100$, $P>0.05$)。说明在试验浓度范围内, 污染水平、栽培模式差异对植物生长影响较小。

2.1.2 不同处理条件下土壤中 PAHs 的去除作用 70 d 后, 处理条件、栽培模式不同, 土壤中可提取态 PAHs 残留量也不一样 (表 2)。随着初始浓度的增大, 菲、芘在土壤中残留量逐渐增加。相同添加浓度下, 菲、芘残留量的变化趋势为: 处理 1 > 处理 3 > 处理 2 > 处理 4。除添加 NaN_3 的处理 1、处理 3 外, 土壤中菲、芘残留量与其它处理间差异显著 ($n=5$, $P<0.05$); 不同栽培模式下, 处理 4 中菲、芘残留量的组间差异均达到极显著水平 ($n=5$, $P<0.01$)。

结合表 2, 由去除率计算式 $R = (C_0 - C_t) \times 100\% / C_0$

表 2 不同处理条件下土壤中菲、芘的残留量差异

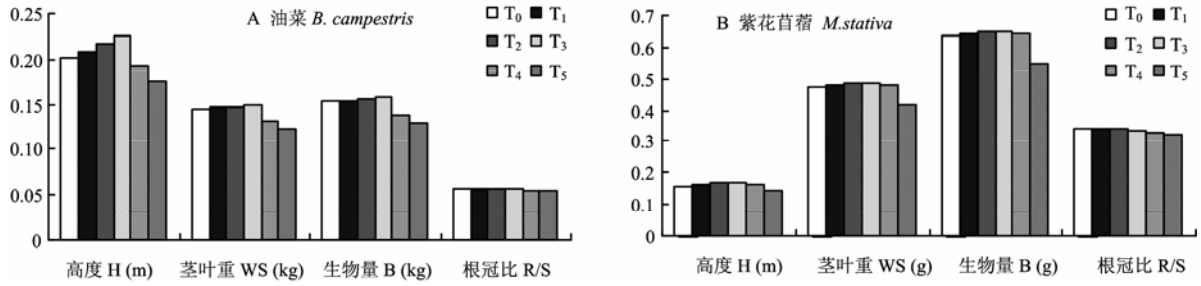
Table 2 Residual concentrations of extractable PAHs in soils under different treatment conditions (mean \pm SD, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

PAHs	初始浓度 Initial concentrations	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5
菲 Phe.	处理 1 Treatment1 (CK ₁)	18.72 \pm 0.77Aa*	38.42 \pm 1.61Aa	76.84 \pm 2.48Aa	154.43 \pm 4.28Aa	311.37 \pm 5.24Aa
	处理 2 Treatment2(CK ₂)	14.02 \pm 0.56Ab	30.21 \pm 1.27Ab	62.40 \pm 2.16Ab	130.86 \pm 4.04Ab	274.62 \pm 4.37Ab
	处理 3 Treatment3 (油菜 <i>B. campestris</i>)	18.03 \pm 0.75Aa	37.13 \pm 1.52Aa	75.09 \pm 2.54Aa	151.86 \pm 4.19Aa	308.05 \pm 5.01Aa
	处理 3 Treatment3 (苜蓿 <i>M. sativa</i>)	16.97 \pm 0.65Aa	35.21 \pm 1.44Aa	71.48 \pm 2.79Aa	145.85 \pm 3.97Aa	296.66 \pm 4.89Aa
	处理 3 Treatment3 (油菜+苜蓿 Bc+Ms)	16.19 \pm 0.68Aab	33.70 \pm 1.29Aab	69.26 \pm 2.12Aab	142.49 \pm 4.42Aab	288.89 \pm 5.16Aab
	处理 4 Treatment4 (油菜 <i>B. campestris</i>)	11.56 \pm 0.44Bc	25.67 \pm 1.08Bc	55.10 \pm 2.41Bc	118.70 \pm 3.75Bc	254.68 \pm 4.27Bc
	处理 4 Treatment4 (苜蓿 <i>M. sativa</i>)	6.03 \pm 0.19Cd	13.29 \pm 0.47Cd	28.30 \pm 1.24Cd	62.16 \pm 2.71Cd	141.20 \pm 4.59Cd
	处理 4 Treatment4 (油菜+苜蓿 Bc+Ms)	3.30 \pm 0.14De	8.37 \pm 0.27De	19.55 \pm 0.49De	46.46 \pm 1.73De	112.18 \pm 2.82De
芘 Pyr.	处理 1 Treatment1(CK ₁)	19.59 \pm 0.76Aa	38.42 \pm 1.33Aa	77.82 \pm 2.89Aa	156.99 \pm 4.01Aa	315.57 \pm 4.57Aa
	处理 2 Treatment2(CK ₂)	15.34 \pm 0.55Ab	31.19 \pm 1.32Ab	65.65 \pm 2.47Ab	135.42 \pm 4.55Ab	278.74 \pm 4.27Ab
	处理 3 Treatment3 (油菜 <i>B. campestris</i>)	18.73 \pm 0.74Aa	36.79 \pm 1.39Aa	75.36 \pm 3.12Aa	153.30 \pm 4.32Aa	309.75 \pm 4.44Aa
	处理 3 Treatment3 (苜蓿 <i>M. sativa</i>)	17.63 \pm 0.73Aa	35.03 \pm 1.36Aa	72.09 \pm 2.87Aa	148.85 \pm 3.89Aa	302.39 \pm 3.89Aa
	处理 3 Treatment3 (油菜+苜蓿 Bc+Ms)	16.67 \pm 0.62Aab	33.23 \pm 1.15Aab	69.51 \pm 3.08Aab	142.23 \pm 4.12Aab	290.31 \pm 3.69Aab
	处理 4 Treatment4 (油菜 <i>B. campestris</i>)	12.95 \pm 0.53Bc	26.74 \pm 1.19Bc	58.05 \pm 2.29Bc	122.79 \pm 3.61Bc	257.50 \pm 3.28Bc
	处理 4 Treatment4 (苜蓿 <i>M. sativa</i>)	7.53 \pm 0.17Cd	16.68 \pm 0.77Cd	38.40 \pm 1.42Cd	85.86 \pm 2.97Cd	191.15 \pm 2.83Cd
	处理 4 Treatment4 (油菜+苜蓿 Bc+Ms)	4.99 \pm 0.19De	11.13 \pm 0.44De	26.09 \pm 1.23De	53.89 \pm 2.12De	128.29 \pm 2.96De

Bc: *Brassica campestris*; Ms: *Medicago sativa*; See table1 for T_0 ~ T_5 codes

* 同列数据后面的不同大写、小写字母标记说明彼此差异达到极显著水平 ($P<0.01$, $n=5$) 或显著 ($P<0.05$, $n=5$)

*Values in a column followed by different capital or lowercase letters are statistically different from each other at 1% or 5% probability level by DMRT ($P<0.01$, $n=5$ or $P<0.05$, $n=5$)



H, WS, B and R/S represent height (m), weight of shoot (g or kg), biomass (g or kg) and root/shoot ratio, respectively; See table1 for T₀-T₅ codes

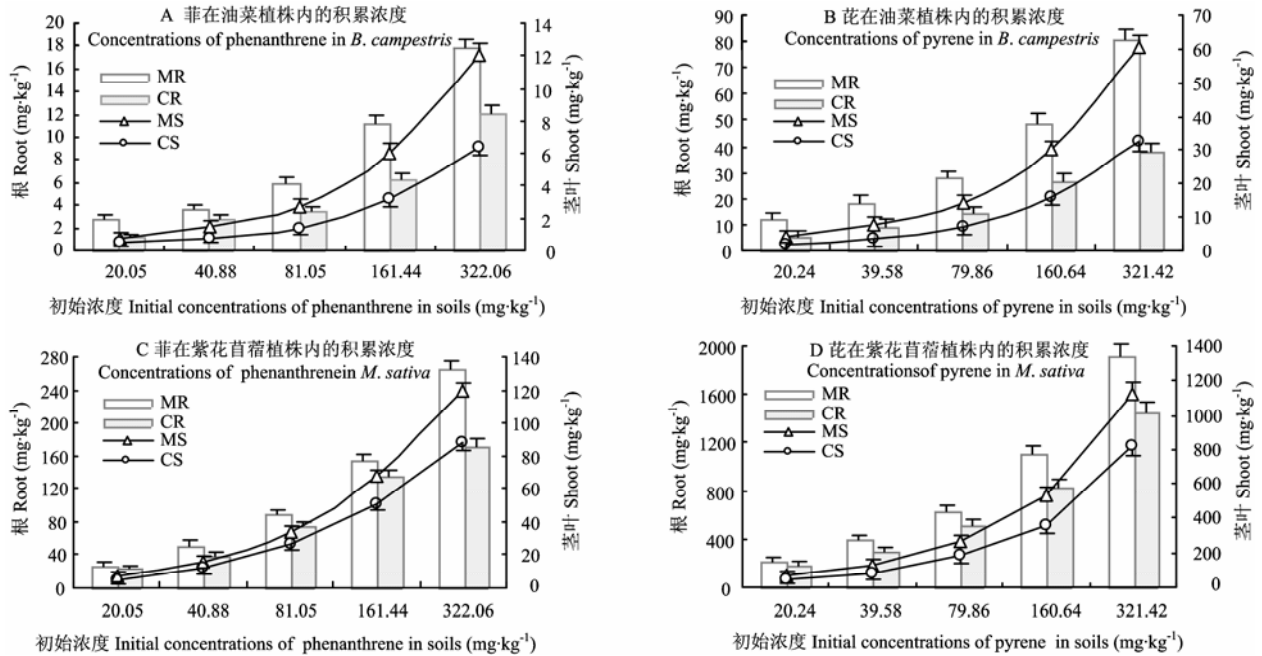
图 1 菲污染对油菜 (A)、紫花苜蓿 (B) 生长的影响

Fig. 1 Growth difference of *B. campestris* (A) and *M. sativa* (B) in soils treated with different concentrations of phenanthrene

求得不同处理条件下土壤中 PAHs 去除率。计算结果显示：70 d 后，土壤中 PAHs 去除率呈现处理 4>处理 2>处理 3>处理 1 的变化趋势。同处理组合中，随着 PAHs 添加浓度的递增，去除率逐渐递减；处理条件、污染水平相同的不同栽培模式间，混种组中 PAHs 去除率最高，苜蓿组次之，油菜组最低；相同条件下，土壤中菲的去除效果明显好于芘。如处理 4 中，混种组中菲去除率为 65.17%~83.52%，平均为 75.06%；苜蓿组、油菜组中菲去除率为 56.16%~69.93%、20.92%~40.93%，平均去除率分别比混种组低

11.03%、43.26%。芘的情况类似于菲，混种组去除率为 60.09%~75.34%，平均为 68.22%；苜蓿组、油菜组的去除率为 40.53%~62.81%、19.89%~36.03%，平均去除率分别比混种组低 16.29%、40.37%。说明用油菜-紫花苜蓿混种模式强化菲、芘污染的修复效果在理论上是可行的。土壤中芘的残留浓度高于菲，可能与芘的分子量大、难降解，在土壤中持留性强有关^[12-13]。

2.1.3 栽培模式对植物积累效应的影响 不同栽培模式下植物对 PAHs 的积累量差异很大 (图 2)。单种时，油菜根、茎叶中菲积累浓度分别为 2.74~17.84、



MR, MS, CR, CS 分别代表单种、混种时植株根、茎叶中 PAHs 浓度
MR, MS, CR and CS represent extractable concentration of PAHs in the root, shoot of plants under monocropping and mixed cropping patterns, respectively

图 2 不同栽培模式下植物体内 PAHs 积累量

Fig. 2 Concentrations of PAHs in root and shoot of plants under different planting patterns

0.77~12.04 mg·kg⁻¹, 芘积累浓度分别为 12.03~80.9、5.52~38.22 mg·kg⁻¹; 混种时, 根、茎叶中菲积累浓度为 1.22~12.11、0.45~6.44 mg·kg⁻¹, 芘积累浓度为 3.97~60.53、1.87~32.52 mg·kg⁻¹。紫花苜蓿对 PAHs 的积累效应与油菜相似: 低污染环境小于高污染环境、茎叶部低于根部、混种模式低于单种模式。污染越严重, 趋势越明显。说明在 PAHs 污染区, 以混种模式代替单作模式可以减少 PAHs 在植物体内的积累。植物体内不同部位积累差异可能与植物组织脂肪含量的不均匀性有关(紫花苜蓿根、茎叶脂肪含量为 1.824%、0.008%; 油菜根、茎叶脂肪含量为 0.765%、0.003%)。相似添加浓度下, 植物根、茎叶中芘含量大于菲, 可能与芘的 $\lg K_{ow}$ 较大有关(菲和芘的 $\lg K_{ow}$ 分别为 4.46 和 4.88) [14]。

2.2 不同栽培模式下 PAHs 修复机制的比较

土壤中 PAHs 的去除主要源于各种非生物因素, 如渗滤 (leaching)、非生物性损失 (abiotic loss, 包括吸附、光解、挥发等), 以及各种生物因素, 如植物代谢 (plant metabolism)、植物积累 (plant

accumulation)、微生物降解 (microbial degradation)、植物-微生物联合效应 (plant-microbial interactions)。本试验中, CK₁ 中 PAHs 去除主要源于渗滤、非生物损失; CK₂ 中 PAHs 的去除源于渗滤、非生物损失与微生物降解; TR₃ 中 PAHs 去除则是渗滤、非生物损失、植物代谢与植物积累的结果; TR₄ 中 PAHs 去除是渗滤、非生物损失、植物、微生物的共同作用。由此, 可用以下公式表述各处理土壤中菲和芘的去除:

$$R_1 = T_1 + T_a$$

$$R_2 = T_1 + T_a + P_m$$

$$R_3 = T_1 + T_a + T_{pc} + T_{pd}$$

$$R_4 = T_1 + T_a + T_{pc} + T_{pd} + P_m + T_{dm}$$

式中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 分别为 CK₁、CK₂、TR₃、TR₄ 中菲或芘的去除率; T_1 、 T_a 、 T_{pc} 、 T_{pd} 、 P_m 、 T_{dm} 分别为渗滤、非生物损失、植物积累、植物代谢、微生物降解、植物-微生物联合效应在 PAHs 修复过程中的贡献率 (即去除因子对 PAHs 的实际去除量与初始添加量的百分比)。由渗滤液、土样、植物样中菲、芘含量, 求得各因子在 PAHs 修复过程中的贡献率 (表 3)。

表 3 不同栽培模式下各种生物、非生物因子在去除 PAHs 过程中的贡献率

Table 3 Contributions of biotic and abiotic factors to remediation of PAHs in soils under different planting patterns (%)

多环芳烃 PAHs	菲 Phenanthrene					芘 Pyrene					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	
初始浓度 Initial concentrations (mg·kg ⁻¹)	20.05	40.88	81.05	161.44	322.06	20.24	39.58	79.86	160.64	321.42	
非生物损失 Abiotic loss	6.65	6.01	5.19	4.34	3.32	3.21	2.93	2.56	2.27	1.82	
微生物去除 Microbial degradation	23.43	20.09	17.82	14.60	11.41	21.02	18.26	15.23	13.43	11.46	
单种(油菜) Monocropping (<i>B. campestris</i>)	植物积累 Plant accumulation	0.27	0.25	0.25	0.23	0.22	1.38	1.33	1.25	1.16	1.09
	植物代谢 Plant degradation	3.15	2.91	1.92	1.36	0.81	2.85	2.78	1.83	1.14	0.72
	植物-微生物联合效应 Plant-microbial interactions	8.86	7.94	6.84	5.94	5.16	7.57	7.13	6.45	5.56	4.80
单种(紫花苜蓿) Monocropping (<i>M. sativa</i>)	植物积累 Plant accumulation	0.18	0.18	0.17	0.16	0.15	1.34	1.28	1.21	1.13	1.04
	植物代谢 Plant degradation	8.51	7.67	6.44	5.16	4.42	8.35	7.28	5.96	3.94	3.06
	植物-微生物联合效应 Plant-microbial interactions	31.16	33.54	35.46	37.24	36.86	28.89	28.12	26.95	25.78	24.15
混种(油菜-紫花苜蓿) Mixed cropping (<i>B. campestris</i> - <i>M. sativa</i>)	植物积累 Plant accumulation	0.43	0.41	0.41	0.38	0.36	2.71	2.59	2.34	2.21	2.11
	植物代谢 Plant degradation	11.99	11.12	8.94	7.02	6.62	11.74	10.53	8.06	6.98	5.75
	植物-微生物联合效应 Plant-microbial interactions	41.02	41.89	43.53	44.88	43.46	36.66	37.57	39.14	41.56	39.95

本试验中, 渗滤、非生物性损失、微生物降解对 PAHs 去除的贡献率在各栽培模式下相同: 所有盆钵渗滤液中都没检测出菲、芘, 渗滤损失甚微; 试验浓度范围内, CK₁ 中菲、芘降解率分别为 3.32%~6.65%

(平均值 $m=5.1\%$)、1.821%~3.21% ($m=2.56\%$), 说明非生物性损失不是菲、芘去除的主要途径; 微生物降解的菲、芘量分别占其总量的 11.41%~23.43% ($m=17.47\%$)、11.46%~21.02% ($m=15.88\%$), 对

PAHs 去除贡献较大。不同栽培模式下, 植物积累、代谢作用对 PAHs 去除的贡献差异甚小: 单种时, 油菜、紫花苜蓿积累的非、芘量分别占其总量的 0.22%~0.27%、1.09%~1.38% 和 0.15%~0.18%、1.04%~1.34%; 油菜、紫花苜蓿代谢的非、芘量分别占其总量的 0.81%~3.15%、0.72%~2.85% 和 4.42%~8.51%、3.06%~8.35%。混种时, 植物积累、植物代谢的非、芘量仅占其添加总量的 0.36%~0.43%、2.11%~2.27% 和 6.22%~11.99%、5.75%~11.74%。相比之下, 不同栽培模式下植物-微生物联合效应在 PAHs 去除过程中的贡献最大: 在油菜组、苜蓿组、混种组中, 联合效应去除非、芘量的平均值分别占其总量的 6.95%、34.85%、42.95% 和 6.3%、26.78%、38.98%。可见, 植物-微生物联合效应是混种模式下植物-微生物系统修复非、芘污染土壤的主要途径。

3 讨论

植物的吸收、累积及根际矿化作用是土壤中 PAHs 的去除途径之一^[15]。植物能吸收、累积一定量的 PAHs, 吸收速率与其生物有效性成正相关^[6]; PAHs 的降解与植物自身分泌的各种胞外酶有关, 在胞外酶的作用下, PAHs 被转化为植物细胞直接吸收的小分子物质^[16]。如在非、BaP 污染的土壤中种植黑麦草 (*Lolium multiflorum* L.), 可促进土壤中非、BaP 的降解^[17]。Chen 用同位素示踪法研究植物根际对芘的矿化作用发现, 190 d 后, 分别有 37.7%、30.4% 芘被高羊茅 (*Festuca arundinacea* S.)、柳枝稷 (*Panicum virgatum* L.) 根际所矿化, 矿化率比对照组分别高出 33.3%、26.0%^[18]。

本研究表明, 土壤-植物系统对污染土壤中非、芘去除作用明显, 在油菜组、苜蓿组、混种组中, 70 d 后, 分别有 31.8%、64.03%、75.06% 的非和 27.84%、51.93%、68.22% 的芘被去除, 但植物直接作用 (包括植物积累、代谢) 仅占被添加非、芘总量的 2.27%、6.61%、9.57% 和 3.1%、6.92%、10.99%。说明植物直接作用不是土壤-植物系统中非、芘去除的主要原因。

微生物降解是土壤中 PAHs 去除的另一途径, 植物可通过改变微生物区系结构、增加其数量或提高其活性加快有机污染物降解^[19-20]。Jennifer 等^[21]研究发现, 黑麦草、紫花苜蓿的根系活动能提高根际环境中微生物的种类、数量, 促进石油烃的降解; Corgie 等^[22]发现, 黑麦草的根系活动对微生物种群数量、非降解间存在很强的空间动态分布关系: 距根系越近, 微生

物数目越多, 越有利于非的降解, 反之亦然。本研究中, CK₂、CK₁ 的非、芘残留量差异 (即微生物降解作用) 分别为 17.47%、15.88%, 表明土壤 (土著微生物) 对 PAHs 污染具有一定的自净能力。

在植物-微生物系统中, 植物释放的部分根际分泌物和酶能促进根际微生物的活性和生物转化作用。Yi 等^[23]证实, 在芹菜 (*Apium graveoliens* L.)、萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 等植物修复芘、BaP 时, 根系分泌的亚麻酸在促进 PAHs 去除过程中起主要作用。Rugh 等^[24]发现, 植物可通过增强微生物活性、扩大微生物活动范围来促进非的去除。本研究中, 植物-微生物联合效应在修复效果较好的紫花苜蓿组、油菜-紫花苜蓿混种组中去除的非、芘量分别占其被去除总量的 54.43%、57.22% 和 51.57%、57.14%, 其贡献超过非生物损失、微生物降解、植物直接作用之和; 在修复效果较差的油菜组中, 植物-微生物联合效应去除的非、芘量占其去除总量的 21.86%、22.63%。说明植物促进了土著微生物对非、芘的降解作用, 植物微生物联合作用有利于 PAHs 污染土壤修复效果的提高。

Maila 等^[25]在研究 *Brachiaria serrata*、*Eleusine corocana* 单独作用、联合种植对葱、芴的修复效果时发现: 联合种植对 PAHs 修复效果明显超过单一植物, 但对芴的强化效应并不明显。本研究中, 油菜、紫花苜蓿联合种植时对非、芘修复效果分别比二者单独种植时高出 43.26%、60.38% 和 11.03%、16.29%, 强化效应明显。联合种植对芴的修复效应的不一致性可能与不同试验选用的试验材料、试验条件的差异有关。

本试验中, 渗滤、非生物性损失、微生物降解对 PAHs 去除的贡献率在各栽培模式下相同, 混种模式下对 PAHs 的强化去除部分主要来源于植物的直接作用、植物-微生物的联合作用。但混种条件下植物直接作用对 PAHs 的去除贡献率接近与二者单独种植时去除贡献的相加效应, 其去除量仅占被添加非、芘总量的 9.57% 和 10.99%, 远小于植物-微生物联合作用对非、芘去平均除量 (分别占其总量的 42.95% 和 38.98%)。可见, 混种模式下植物-微生物的联合作用是植物-微生物系统强化修复 PAHs 污染的主要原因。

试验周期内, 油菜仍处于营养生长期, 栽培模式对种子中 PAHs 积累效应的影响还有待进一步研究。

4 结论

(1) 在试验浓度 (0~322 mg·kg⁻¹) 范围内, 油菜、

紫花苜蓿能够在菲、芘污染土壤中正常生长, 污染水平、栽培模式差异对植物生长影响较小。

(2) 油菜组、紫花苜蓿单独种植 70 d 后, 土壤中菲、芘去除率分别为 31.8%、27.84% 和 64.03%、51.93%, 混种时的去除率分别为 75.06%、68.22%。混种模式下 PAHs 去除率明显高于单独种植, 强化效应明显。

(3) 油菜、紫花苜蓿对 PAHs 有一定的积累效应: 低污染时小于高污染、茎叶部低于根部、菲小于芘; 相似污染水平下, 混种时积累量低于单种。

(4) 混种模式下植物微生物联合作用去除的 PAHs 分别占菲、芘添加总量的 42.95% 和 38.98%, 占被去除菲、芘总量的 57.22%、57.14%, 是植物-微生物系统强化修复 PAHs 污染的主要原因。

致谢: 试验过程中, 得到西南大学资源与环境学院王明霞老师以及环境科学系 2004 级同学王永敏、刘璞玉、张幸福、戚宇、湛鹏飞等的热情帮助, 一并致谢!

References

- [1] Manoli E, Samara C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 1999, 18(6): 417-428.
- [2] Tao S, Cui Y H, Xu F L, Li B G, Cao J, Liu W X, Schmitt G, Wang X J, Shen W R, Qing B P, Sun R. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetable from Tianjin. *The Science of the Total Environment*, 2004, 320: 11-24.
- [3] Li X H, Ma L L, Liu X F, Fu S, Cheng H X, Xu X B. Polycyclic aromatic hydrocarbon in urban soil from Beijing, China. *Journal of Environmental Sciences*, 2006, 18(5): 944-950.
- [4] Kipponlou A M, Manoli E, Samara C. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. *Environmental Pollution*, 1999, 106: 369-380.
- [5] Parrish Z D, Banks M K, Schwab A P. Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons impacted soil. *Environmental Pollution*, 2005, 137: 187-197.
- [6] Xu S Y, Chen Y X, Wu W X, Wang K X, Lin Q, Liang X Q. Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation. *The Science of the Total Environment*, 2006, 363: 206-215.
- [7] Chiou C T, Sheng G Y, Manes M. A partition-limited model for plant uptake of organic contaminants from soil and water. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35: 1437-1444.
- [8] Gao Y Z, Zhu L Z. Phytoremediation for phenanthrene and pyrene contaminated soils. *Journal of Environmental Sciences*, 2005, 17(1): 14-18.
- [9] Gao Y Z, Zhu L Z. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils. *Chemosphere*, 2004, 55: 1169-1178.
- [10] Wang M J, Jones K C. Uptake of chlorobenzenes by carrots from spiked and sewage sludge-amended soil. *Environmental Science & Technology*, 1994, 28: 1260-1267.
- [11] 潘声旺, 魏世强, 袁馨, 曹生宪. 沿阶草(*Ophiopogon japonicus*)对土壤中菲芘的修复作用. *生态学报*, 2008, 28(8): 3654-3661.
Pan S W, Wei S Q, Yuan X, Cao S X. Mechanisms of the removal and remediation of phenanthrene and pyrene in soil by dwarf lilyturf. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(8): 3654-3661. (in Chinese)
- [12] Reilley K A, Banks M K, Schwab A P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Journal of Environmental Quality*, 1996, 25: 212-219.
- [13] Zhu L Z, Gao Y Z. Prediction of phenanthrene uptake by plants with a partition-limited model. *Environmental Pollution*, 2004, 131: 505-508.
- [14] Polder M D, Hulzebos E M, Jager D T. Validation of models on uptake of organic chemicals by plant roots. *Hazard Assessment*, 1995, 14(9): 1615-1623.
- [15] Child R, Miller C D, Liang Y, Sims R C, Anderson A J. Pyrene mineralization by *Mycobacterium* sp. strain KMS in a barley rhizosphere. *Journal of Environmental Quality*, 2007, 36(5): 1260-1265.
- [16] Gianfreda L, Maria A R. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, 2004, 35: 339-354.
- [17] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 宋静, 吴龙华, 邢维芹, 李振高, 陶澎. 黑麦草对土壤中苯并[a]芘动态变化的影响. *土壤学报*, 2004, 41(3): 348-353.
Ding K Q, Luo Y M, Liu S L, Song J, Wu L H, Xing W Q, Li Z G, Tao P. Dynamics in benzo[a] pyrene concentrations in soil as influenced by ryegrass plants. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(3): 348-353. (in Chinese)
- [18] Chen Y C, Banks M K, Schwab A P. Pyrene degradation in the rhizosphere of tall Fescue (*Festuca arundinacea*) and Switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *Environmental Science & Technology*, 2003, 37: 5778-5782.
- [19] Joner E J, Leyval C. Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) dissipation in two industrial soil and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37: 2371-2375.

- [20] 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.
- Xu C, Xia B C. Research progress in rhizoremediation on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soil. *Ecology and Environment*, 2007, 16(1): 216-222. (in Chinese)
- [21] Kirk J K, Klironomos J N, Lee H, Trevors J T. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil. *Environmental Pollution*, 2005, 133: 455-465.
- [22] Corgié S C, Joner E J, Leyval C. Rhizospheric degradation of phenanthrene is a function of proximity to roots. *Plant and Soil*, 2003, 257(1): 143-150.
- [23] Yi H, Crowley D E. Biostimulation of PAH degradation with plants containing high concentrations of linoleic acid. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(12): 4382-4388.
- [24] Rugh C L, Susilawati E, Kravchenko A N, Thomas J C. Biodegrader metabolic expansion during polyaromatic hydrocarbons rhizoremediation. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, 2005, 60(3): 331-339.
- [25] Maila M P, Randima P, Cloete T E. Multispecies and monoculture rhizoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from the soil. *International Journal of Phytoremediation*, 2005, 7(2): 87-98.

(责任编辑 李云霞)